

UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

ZEITSCHRIFT

FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND

VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET

VON

CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN
G. MELCHERS · F. OEHLKERS · K. PÄTAU · H. STUBBE

86. BAND 1. HEFT

MIT 54 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 26. MAI 1954)



BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG

1954

Preis DM 36.60

CAL

301

er-
lehre

Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre.

Begründet 1908. Herausgegeben von C. Correns, V. Haecker, G. Steinmann, R. v. Wettstein, Erwin Baur u. a. Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Bornträger, ab Band 82 (1948) Berlin, Springer.

Die „Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh/Schottland,

Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,

Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,

Professor Dr. Alfred Kühn, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, Spemannstraße 34,

Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,

Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,

Professor Dr. Klaus Patau, Department of Botany, Biology Building, University of Wisconsin, Madison 6 Wis. USA.,

Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Dessau), Institut für Kulturpflanzenforschung.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei den Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostensatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,

alle die Zeitschrift betreffenden geschäftlichen Mitteilungen an den
Springer-Verlag, (17a) Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,
zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:

G. Melchers

H. Stubbe

Berlin W 35

Reichpietschufer 20

Fernsprecher: 249251

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

ENTWICKLUNG UND POLYPLOIDIE IN DER *VERONICA*-GRUPPE *AGRESTIS*.

Von

ERNST LEHMANN und MARGOT SCHMITZ-LOHNER.

Mit 18 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1953.)

A. Einleitung.

Der Verwandtschaftskreis der Gattung *Veronica*, welcher nach der von LINNÉ (Sp. pl. 1753 I, S. 13, Nr. 20) aufgestellten Art als *Veronica*-Gruppe *Agrestis* bekannt ist, umfaßt die folgenden Arten: *V. agrestis* L., *V. opaca* FR., *V. polita* FR., *V. siaretensis* LEHM., *V. Tournefortii* GM., (*V. perica* POIR.) und *V. filiformis* SM.¹ Die ersten 4 Arten sind heute weithin als Ackerunkräuter verbreitet, *V. siaretensis* ist nur von einer ganz beschränkten Stelle in Persien bekannt, *V. filiformis* entstammt dem Kaukasus und war bis vor kurzem auf ihn beschränkt (vgl. dazu S. 22).

Die Arten *V. agrestis*, *polita* und *opaca*, welche bis Ende des 18. Jahrhunderts als einzige Glieder der Gruppe in Europa verbreitet waren (vgl. S. 27), ähneln einander so sehr, daß sie auch von sonst zuverlässigen und kenntnisreichen Floristen wie Systematikern immer erneut verwechselt wurden. Eine umfassende Schilderung der diesbezüglichen Lage hat LEHMANN (1908) gegeben (vgl. dazu auch DRABBLE and LITTLE 1931 und unser Literaturverzeichnis).

Die beiden Arten *V. Tournefortii* und *V. filiformis* sind erst in neuerer Zeit aus ihrer östlichen Heimat nach Westeuropa vorgestoßen, *V. Tournefortii* seit etwa 1800, *V. filiformis* ein Jahrhundert später. Auch sie gaben anfangs zu mancherlei Verwechslungen Anlaß.

Heute sind die diagnostischen Charaktere aller 6 Arten der Gruppe klar herausgearbeitet (LEHMANN 1912), so daß bei sorgfältiger Beachtung derselben Verwechslungen durchaus vermieden werden können.

B. Die zytologischen Grundlagen.

Die Untersuchungen der Chromosomenzahlen führten zu folgendem Ergebnis (Literatur siehe bei LEHMANN 1940 und TISCHLER 1950):

V. polita $n = 7$, *V. agrestis*, *opaca* und *Tournefortii* $n = 14$, *V. filiformis* $n = 7$.

Darüber hinaus widmete BEATUS dem Studium des Ablaufes der Meiosis dieser Arten besondere Aufmerksamkeit. Er fand sie in allen Fällen störungslos vor sich gehend. Im Gegensatz zu der diploiden *V. filiformis* — *V. polita* hat er nicht näher untersucht — konnte er indessen bei den Tetraploiden häufiges Auftreten von Multivalenten, darunter auch Quadivalenten — feststellen. Entsprechendes wurde im Tübinger Institut auch bei Arten anderer Verwandtschaftskreise der Gattung *Veronica* beobachtet.

¹ Die Stellung der Arten: *V. ceratocarpa* C. A. MEY., *V. violaeifolia* HOCHST., *V. Aucheri* BOISS., *V. Gaubae* BORNMÜLLER ist zweifelhaft (vgl. dazu RÖMPF 1931, S. 82).

So findet sich bei den tetraploiden *Pseudolysimachia*-Arten im Gegensatz zu den Diploiden vielfach Quadivalentenbindung (GRAZE 1935); ebenso stellte SCHLENKER (1936, S. 343) solche bei tetraploiden *Beccabunga*-Arten fest.

Außer Multivalentenbindung wurde bei den Tetraploiden auch nicht selten „secondary association“ ermittelt.

Auf Grund dieser Befunde schloß BEATUS auf autopolide Entstehung der tetraploiden *Agrestis*-Arten. Einen entsprechenden Schluß zog BRANDT (1952, S. 186) im Gefolge des regelmäßigen Vorhandenseins von Quadivalenten in der Diakinese einer *V. prostrata* mit $n = 16$ gegenüber einer anderen Rasse mit $n = 8$, bei welcher keine Multivalenten zu beobachten waren (vgl. dazu MÜNTZING 1936, S. 266, 310, 324, 364 und BRANDT 1953, S. 116).

Der Grad der Multivalenz erwies sich nach BEATUS bei den drei tetraploiden *Agrestis*-Arten verschieden; am spärlichsten traten multivalente Bindungen bei *agrestis* selbst auf; häufiger fand er sie bei *V. opaca* und *V. Tournefortii*. Übereinstimmend waren die zytologischen Befunde bei den 3 Unterarten von *V. Tournefortii*: *Corrensiana*, *Aschersoniana* und *tubingensis* (vgl. S. 25).

Mit diesen zytologischen Feststellungen waren nun nicht nur weitere Wege zur Klärung der Entwicklung innerhalb der Gruppe gewiesen. Die Gruppe war nun auch in den Kreis der Wildformen gerückt, deren Entstehung besonderes Interesse erweckt, da in ihr ein wichtiger Faktor der Speziesbildung (MÜNTZING 1935/36, S. 326) zur Wirkung kommt und sie damit auch für botanische Deszendenzfragen im allgemeinen von Bedeutung wird (WETTSTEIN 1940, S. 374).

C. Kreuzungen innerhalb der Gruppe.

Es lag die Annahme nahe, daß zwischen den einander so nahestehenden Arten der Gruppe Bastarde entstehen könnten. Solche waren auch mehrfach aus der freien Natur beschrieben worden, ohne daß aber ein bündiger Beweis für diese Bastardnatur erbracht werden konnte (vgl. LEHMANN 1915, S. 97, FOURNIER, GUFFROY, LE VASEUR, Le Monde des Plantes 1932, 1933 und 1938). Da es nun im Interesse der Kenntnis von Vererbung und Entwicklung der Gruppe von besonderem Interesse gewesen wäre, solche Bastarde näher zu untersuchen, hatte schon LEHMANN (1915, S. 99) Kreuzungen zwischen einigen der Arten durchgeführt.

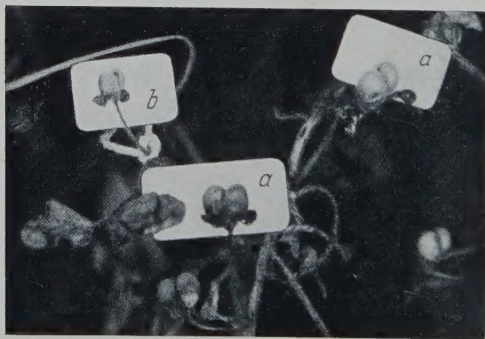


Abb. 1. Kapseln der Kreuzungen
V. opaca × *Tournefortii* (a) und *V. opaca* × *polita* (b).

Diese ergaben indessen im äußersten Falle nicht mehr als Schwellungen der Fruchtknoten. Wir haben entsprechende Versuche mit besonders ausgearbeiteter Methodik erneut aufgenommen. Es kam aber auch diesmal bei den meisten Verbindungen höchstens zu Fruchtknotenschwellungen. Um so auffallender war es, daß die Verbindungen zwischen *V. opaca* ♀ und *Tournefortii* ♂ zum größten Teil (39 von 42) zu äußerlich normal erscheinenden Kapseln führten, (Abb. 1) von denen 29 sogar gut aussehende Samen enthielten. Keimfähig erwies

sich aber keiner derselben. Von all den übrigen Verbindungen brachten es nur noch drei zwischen *opaca* und *agrestis* zu kleineren, samenhaltigen Kapseln. Aber auch diese Samen waren nicht keimfähig. Über alle Einzelheiten dieser Kreuzungen berichtet SCHMITZ (1946).

D. Vergleichende Betrachtung der Merkmale der Arten der *Veronica*-Gruppe *Agrestis*.

Hat sich die Aufklärung der Erbgrundlagen der Arten der Gruppe *Agrestis* durch Kreuzung als jedenfalls vorläufig unmöglich erwiesen, so ließ sich ein anderer Weg zur annähernden Erfassung dieser Grundlagen beschreiten. Er besteht darin, die quantitativ differierenden Merkmale der einzelnen Arten vergleichend messend zu verfolgen und sie mit der genomatischen Struktur in Beziehung zu setzen. Auf diese Weise wird es möglich, weitgehend zu scheiden, was genomatisch und was faktoriell bedingt ist: so werden die Folgeerscheinungen der Polyploidie für die Einzeleigenschaften in gewissem Umfange übersehbar. Solche Zusammenhänge hat MÜNTZING (1936) für intraspezifische Autoploide in erheblicher Zahl zusammengestellt; zudem hat er künstliche und natürliche Polyploide miteinander verglichen. Diese Zusammenstellung zeigt aber, wie WETTSTEIN (1940, S. 374) treffend ausführt: „daß hier noch die wesentlichste Arbeit zu leisten ist“. „Das aber ist höchst bedauerlich“, fährt er fort, „weil gerade die Frage, wie weit die Eigenschaften der polyploiden Wildformen auf den polyploiden Charakter zurückgeführt werden können, und wie weit wir damit die Entstehung eines wesentlichen Komplexes der Eigenschaften bei Pflanzen überhaupt verstehen können, noch nicht zu beantworten ist. Es ist dies wesentlich, weil natürlich zunächst immer die Frage bestehen bleibt, ob bei den abgeänderten Eigenschaften der Polyploiden nur der polyploide Charakter wirkt oder ob auch noch andere Vorgänge im Spiele sind, die weiterer Aufklärung harren.“ „Noch fehlen aber hier geeignete Vergleichsangaben in größerer Zahl. Es bleibt daher wichtigste Aufgabe, die einzelnen Eigenschaftskomplexe, die einzelnen Leistungsgruppen an verschiedenem Material einer genauen, vergleichenden Analyse zu unterziehen.“ Hierzu bietet eine Artengruppe, innerhalb welcher, wie bei unseren *Agrestes*, mehrere nächstverwandte Diploide und Tetraploide auftreten, besonders günstige Möglichkeiten. Denn wirkliche Relationen lassen sich nur in solchen engen Verwandtschaftskreisen ermitteln.

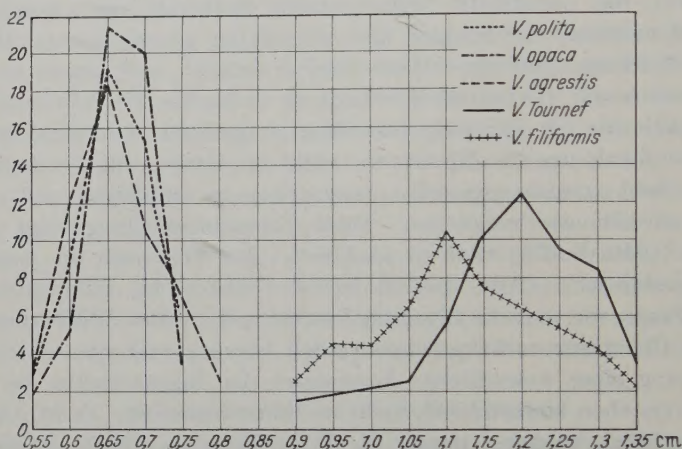
Die Schwäche unserer Arbeit mit dieser Gruppe liegt natürlich darin, daß keine Kreuzungsanalyse zur Kontrolle durchgeführt werden kann, so daß dadurch nicht scharf zwischen dem Einfluß verschiedener Anlagen und Massenvermehrung des Chromatins geschieden werden kann. Wenn aber mehrere naheverwandte Tetraploide beim Vergleich bezüglich bestimmter Merkmale verschiedene Ergebnisse zeitigen, so muß auf die direkte oder indirekte faktorielle Mitwirkung geschlossen werden.

Für jede vergleichende Betrachtung ist stets peinlich genau zu beachten, daß die zu vergleichenden Pflanzen bzw. Organe sich auf gleichen Entwicklungsstadien und unter übereinstimmenden Außenbedingungen befinden. Wir haben dieser Forderung allgemein dadurch genügt, daß wir unsere Versuchspflanzen zu gleicher Zeit angezogen haben, und weiter in gleich beschickten Töpfen und in nebeneinanderliegenden Kästen sich entwickeln ließen. Wo noch im einzelnen Besonderheiten bei der vergleichenden Messung zu beachten sind, wurde das für die betreffenden Fälle ausgeführt.

I. Der Vergleich der reproduktiven Organe.

1. Die Blütengrößen.

a) Allgemeines. Schon die einfache Betrachtung lehrt uns, und jede einschlägige Flora bestätigt es, daß sich die Blüten der *Agrestis*-Arten in ihrer Größe sehr erheblich unterscheiden. Will man diese Differenzen aber exakt erfassen, so ist gerade in diesem Falle besonders auf die Gleichheit der Entwicklungsstadien der Pflanzen, von denen die Blüten entnommen werden, wie auf das gleiche Alter der Blüten selbst zu achten. Über die mancherlei Fehlerquellen, welche bei diesen Messungen im vorliegenden Falle bestehen, hat LEHMANN (1915, S. 105 ff.) eingehende Ausführungen gemacht. Unter Beachtung derselben wurden jeweils

Abb. 2. Blütengrößen der Arten der Gruppe *Agrestis*.

50 Blüten der Arten vergleichend gemessen und die Messungsergebnisse in den hierüberstehenden Kurven wiedergegeben (Abb. 2).

Die Kurven lassen erkennen, daß sich hier zwei nicht durch Transgressionen verbundene Größenklassen gegenüberstehen. Beide umfassen sowohl diploide wie tetraploide Arten. So bewegt sich unter den in unseren Versuchen herrschenden Bedingungen die Größe der Blüten von *V. Tournefortii* ($n = 14$) und *V. filiformis* ($n = 7$) zwischen 9 und 13,5 mm, die der Arten *agrestis* und *opaca* ($n = 14$) und *polita* ($n = 7$) zwischen 5,5 und 8 mm Durchmesser. Sicher kann die Blütengröße dieser Arten somit im allgemeinen nicht durch rein genomatische Grundlagen bestimmt sein. Wohl können wir solche für das Zustandekommen der großen Blüten von *V. Tournefortii* den kleinen von *polita* gegenüber annehmen. Sicher aber kann Tetraploidie nicht zur Erklärung der Ausmaße der kleinen Blüten der Arten *V. agrestis* und *opaca* herangezogen werden. Wir werden vielmehr annehmen müssen, daß an der Bestimmung der Blütengröße der Arten der Gruppe *Agrestis* genomatische und faktorielle Grundlagen beteiligt sind. Daß dies in der Tat der Fall ist, werden wir alsbald durch unsere zeichnerischen Aufnahmen wie Messungsergebnisse belegen können (vgl. S. 7 ff.).

Für die Beurteilung der Bedingtheit der Blütengrößen in unserer Gruppe ist aber zunächst noch ein Blick auf entsprechende Verhältnisse in anderen Gruppen der Gattung *Veronica* aufschlußreich. Auch dürften unsere Befunde zur weiteren

Verfolgung jener Verhältnisse anregen. Wir geben dafür einige Beispiele (vgl. LEHMANN 1940).

b) Die Blütengrößen in anderen Verwandtschaftskreisen der Gattung *Veronica* im Verhältnis zur genomatischen Valenz. α) Verwandtschaftskreise mit engen Beziehungen zwischen Blütengrößen und genomatischer Valenz. Am eindrucksvollsten stellen sich die Beziehungen zwischen Blütengrößen und genomatischer Valenz innerhalb der Gruppe *Chamaedrys* bei den *Pentasepalae* dar. In diesem Verwandtschaftskreis wechseln die Chromosomenzahlen von $n = 8$ bis $n = 32$, nicht nur von Art zu Art, sondern auch innerhalb einzelner Arten in enger Korrelation mit den Blütengrößen nicht unerheblich. SCHEERER (1936/37), dem wir

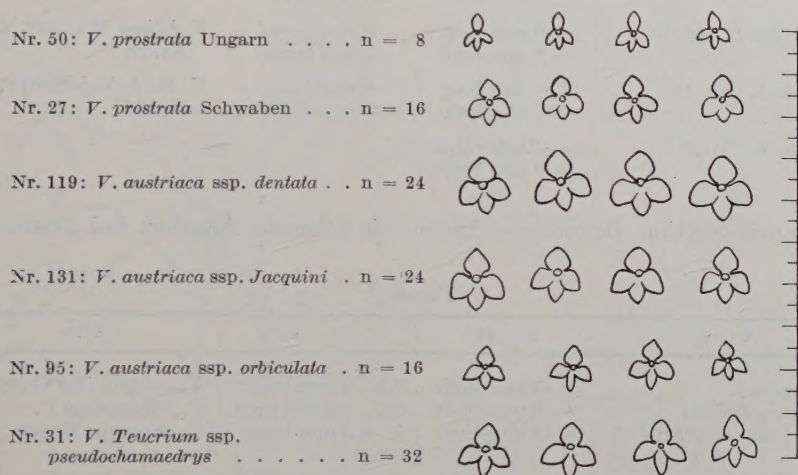


Abb. 3. Beziehungen zwischen Blütengröße und Chromosomenzahl der Arten der Gruppe *Pentasepala* der Sektion *Chamaedrys*.

die Kenntnis dieser Tatsachen verdanken, stellt beides in anschaulicher Weise einander gegenüber (Abb. 3). Für *V. prostrata* $n = 8$ und $n = 16$ wurden die gleichen Beziehungen der Chromosomenzahl zur Blütengröße auch von BRANDT (1953, S. 112) erwiesen.

Klare Beziehungen zwischen Genomzahl und Blütengröße scheinen auch in der Gruppe *Megasperma*, wie folgende Übersicht erkennen läßt, zu bestehen.

Tabelle 1.

Art	Chromosomenzahl	Blütengröße
Untergruppe <i>Hederifolia</i>		
<i>V. hederifolia</i> L.	$n = 28$	2—2,5 mm
<i>V. sibthorpioides</i> DEB. et DEGEN . .	$n = 15$	etwa 1 mm
Untergruppe <i>Cymbalaria</i>		
<i>V. cymbalaria</i> BOD.	$n = 18$	3—5 mm
<i>V. panormitana</i> TIN	$n = 9$	1—2 mm

Sicher liegt auch im Verwandtschaftskreis *Alpina* eine solche Korrelation vor. Während nämlich die kleinblütige *V. alpina* $n = 8$ hat, besitzt die großblütige *V. Wormskioldii* ROEM. et SCHULT. nach BÖCHER (1950, S. 25) $n = 18$ (vgl. zu diesem Verwandtschaftskreis HULTÉN 1949, S. 1382).

αα) Verwandtschaftskreise ohne direkte allgemeine Beziehungen zwischen Blütengrößen und genomatischer Valenz. Für die Sektion *Pseudolysimachia* geben wir die Blütengrößen nach HÄRLE (1932), die Chromosomenzahlen nach GRAZE (1935) wieder.

Tabelle 2.

Arten	n = 34	n = 17	Arten
<i>V. longifolia</i> L. Nr. 7 . .	8 mm lang 7—8 mm breit	7 mm lang 7 mm breit	<i>V. maritima</i> L. (GRAZE 1935) U. 18
<i>V. longifolia</i> L. Nr. 20 . .	8—9 mm lang 7—8 mm breit	5 mm lang 5 mm breit	<i>V. spuria</i> L. Nr. 4
<i>V. longifolia</i> L. Nr. 30 . .	8—9 mm lang 7—8 mm breit	8 mm lang 7 mm breit	<i>V. foliosa</i> WALDST. u. KIT. Nr. 26
<i>V. spicata</i> L. Nr. 23 . . .	6—7 mm lang 6 mm breit	8 mm lang 7—8 mm breit	<i>V. Bachofeni</i> HEUFF. Nr. 66
<i>V. incana</i> L. Nr. 2 . . .	8—10 mm lang 7—9 mm breit		

Für die Sektion *Beccabunga* finden wir folgende Angaben bei SCHLENKER (1936).

Tabelle 3.

Arten	n = 18	n = 9	Arten
<i>V. anagallis</i> L.	4—7 mm breit	2,5—4 mm breit	<i>V. anagalloides</i> GUSS.
<i>V. aquatica</i> BERNH. . . .	4—6 mm breit	6,5—7,6 mm breit	<i>V. Beccabunga</i> L.
<i>V. americana</i> SCHWEIN. .	6—8 mm breit	5—6,5 mm breit	<i>V. oxycarpa</i> BOISS.

Allgemeine Beziehungen zwischen genomatischer Valenz und Blütengröße fehlen auch in der Sektion *Beccabunga*. Immerhin wäre daran zu denken, daß die geringe Blütengröße der diploiden *anagalloides* der tetraploiden *anagallis*, wie die der diploiden *oxycarpa* der tetraploiden *americana* gegenüber genomatisch bedingt sein könnte, wenngleich die Verhältnisse bei *aquatica* und *Beccabunga* umgekehrt liegen.

Völlig unabhängig von genomatischen Valenzverschiebungen ändern sich ferner z. B. die Blütengrößen der nächst verwandten *V. verna* mit 3 mm und *Dillenii* mit 4—5 mm Breite; beide haben die gleiche Chromosomenzahl $n = 8$.

Die Zusammenstellung läßt die mannigfachen Beziehungen zwischen Petalengröße und genomatischer bzw. faktorieller Grundlage deutlich erkennen.

Doch kehren wir nun wieder zur Gruppe *Agrestis* zurück.

c) Die Grundlagen des Größenwachstums der Petalen der Arten der Gruppe *Agrestis*. Es ist eine weitverbreitete Erscheinung, daß mit der Vermehrung der Genome ein Ansteigen der Zellgröße Hand in Hand geht. Es war somit zunächst festzustellen, inwieweit das auch für den vorliegenden Fall zutrifft. Da es sich hier nur um Diploide und Tetraploide handelt, so haben wir nur einen Schritt zu verfolgen. Zudem haben wir uns nur auf die Feststellung der tatsächlichen Vergrößerung in der Ebene beschränkt, und weiterhin von Variabilitätsuntersuchungen, wie sie WETTSTEIN (1937, 1942) in so reichem Maße für Moose durchgeführt hat, abgesehen.

α) *Die Zellgrößen der Petalenepidermen der Arten.* Um eine vergleichende Betrachtung der Zellgrößen der Petalenepidermen bei den verschiedenen, teils diploiden, teils tetraploiden Arten durchführen zu können, war es zunächst nötig, sich über den Bau der Petalen Klarheit zu verschaffen. Hierzu hatten Querschnitts- und Oberflächenbilder zu dienen.

Zur Gewinnung beider wurden die Blumenblätter in Carnoy fixiert; aus der Fixierungsflüssigkeit kamen sie zur Oberflächenbetrachtung in Glyzerin, zur Gewinnung der Querschnittsbilder in Paraffin, in welchem sie mikrotomiert wurden. Die Beobachtung erfolgte bei der Oberflächenbetrachtung mit Leitz Obj. 3 und Perisk. Oc. 15, bei der Querschnittsuntersuchung mit Leitz Obj. 2 und Perisk. Oc. 10. Gezeichnet wurde in beiden Fällen mit

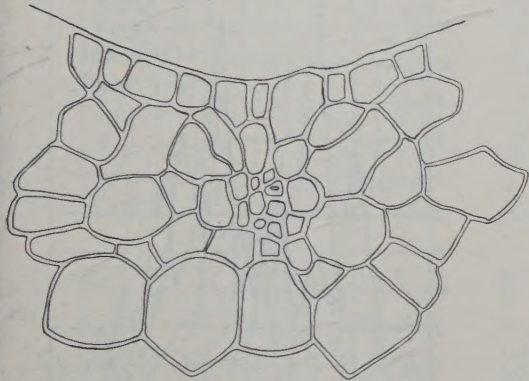


Abb. 4.

Abb. 4. Querschnitt durch ein Blumenblatt von *Veronica Tournefortii*.

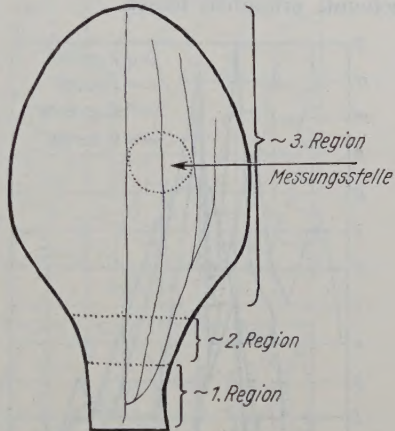


Abb. 5.

Abb. 5. Schema des Petalenbaues in Aufsicht und Markierung der Messungsstelle der Zellgrößen.

dem ABBÉschen Zeichenapparat. Zur Untersuchung wurde stets das vordere, kleinste Blumenblatt der vollentfalteten Blüte verwandt.

Der Grundbau der Blumenblätter war bei allen untersuchten *Agrestes* der gleiche. Zur Untersuchung kamen *V. agrestis*, *opaca*, *polita* und *Tournefortii*.

Die Querschnittsbetrachtung (Abb. 4) ließ die beiden Epidermen erkennen, welche den Größenuntersuchungen in den Aufsichtsbildern zugrunde gelegt wurden. Zwischen den Epidermen liegen wenige parenchymatische Schichten, deren Zahl sich nach Basis und Spitze wie nach den Rändern der Petalen verringert. Die Leitbündel erweisen sich als sehr einfach gebaut; schon aus dem Querschnitt ist zu erkennen, daß die Epidermis der Unterseite größere Zellen hat als die der Oberseite.

Zur Oberflächenbetrachtung wurden sämtliche Zellen der jeweiligen Längshälften der beiderseitigen Epidermen einzelner Petalen zeichnerisch festgehalten. Dabei wurden zunächst die Größenunterschiede beider klar ersichtlich. Zudem ergaben sich Formunterschiede beider, sowohl gegeneinander wie über die Fläche der Epidermis hin; Spaltöffnungen fehlen. Eine Hauptader zieht sich in der Mitte des Blumenblattes vom Grunde bis zur Spitze. Wenige, spärlich verzweigte Seitenadern laufen schwach geschwungen daneben her (Abb. 5).

Die obere Epidermis zeigt von der Basis bis zur Spitze ungefähr das folgende Bild. Der der Basis nächstgelegene Teil, welcher etwa $\frac{1}{6}$ der Gesamtfläche

einnimmt, hat ungleich große, aber geradwandige Zellen, welche blasig aufgetrieben sind. Durch die Behaarung verliert diese Zone etwas an Deutlichkeit. Der nach oben sich anschließende Teil, in seiner Ausdehnung etwa dem Vorhergehenden entsprechend, setzt sich aus etwas regelmäßigeren Zellen zusammen; Behaarung fehlt hier. Beide Regionen liegen innerhalb des Schlundes der Blüte (Abb. 5). Am oberen Ende der zweiten Region biegen die Petalen in die Fläche um. Hier werden die Zellwände allmählich leicht gewellt, wobei sie indessen ihre quadratische bis rechteckige Form im allgemeinen beibehalten, nach außen aber eine papillenförmige Ausstülpung der Zellwand, die fein gefältelt erscheint, erkennen lassen.

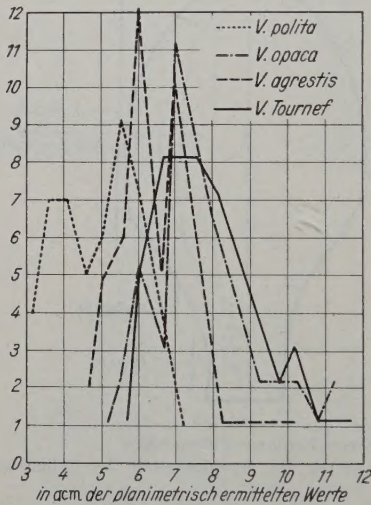


Abb. 6. Zellgrößen der unteren Petalenepidermis.

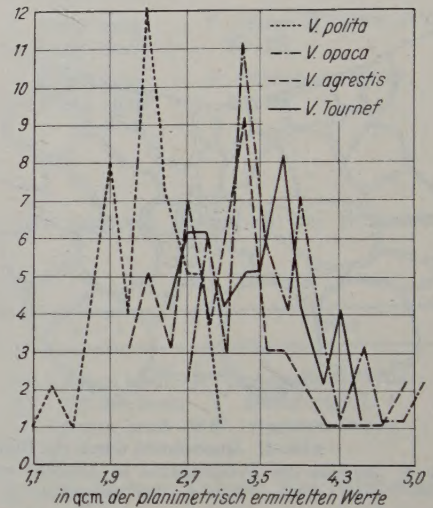


Abb. 7. Zellgrößen der oberen Petalenepidermis.

Die untere Epidermis hat mehr in die Länge gestreckte Zellen. Die Verteilung der einzelnen Zonen ist der der oberen Epidermis entsprechend, jedoch fehlen hier Haaransätze. Der auffallendste Unterschied der oberen Epidermis gegenüber besteht in weit ineinandergreifenden Ausbuchtungen der Zellen, wodurch eine enge Verzahnung derselben zustande kommt, was zu einem ziemlich verwirrenden Oberflächenbild führt (vgl. Abb. 9 und 10). Eine Emporwölbung der äußeren Zellwand fehlt.

Diese Betrachtung läßt klar erkennen, daß sich die Zellgrößen der Epidermen der Petalen der verschiedenen *Agrestis*-Arten nur dann vergleichen lassen, wenn man die Zellen entsprechender Zonen zum Vergleich heranzieht. Um dies zu ermöglichen, wurde eine bestimmte Partie der Epidermen beider Seiten zu eingehenden Größenmessungen verwandt. Am geeignetsten erschien dazu eine Partie zwischen der Hauptader und den beiden Seitenadern, die etwa in der Hälfte jener Zone liegt, welche eben als die dritte bezeichnet wurde.

Aus der so bezeichneten Partie (Abb. 5) wurden jeweils 50 nebeneinanderliegende Zellen der beiderseitigen Epidermen der einzelnen Arten mit stärkerer Vergrößerung (Obj. $51\frac{1}{2}$, Oc. 4) gesondert herausgezeichnet und der Flächeninhalt der so vergrößerten Zellen planimetrisch ermittelt. Zwar blieben nicht unerhebliche Größenschwankungen bestehen; die auf Grund der Messungen aufgestellten

Kurven lassen indessen deutlich erkennen, daß die Zellgrößen der drei tetraploiden Arten erheblich über denen der diploiden *V. polita* liegen (Abb. 6 und 7).

Wir werden dieses Verhältnis mit Recht auf die Erhöhung der Genomzahl bei den Tetraploiden zurückführen. Wie aber ist es zu erklären, daß trotz dieser allgemeinen Zellgrößenerhöhung bei den 3 Tetraploiden, die Petalen der tetraploiden *V. agrestis* und *opaca* nicht größer sind als diejenigen von *V. polita* und

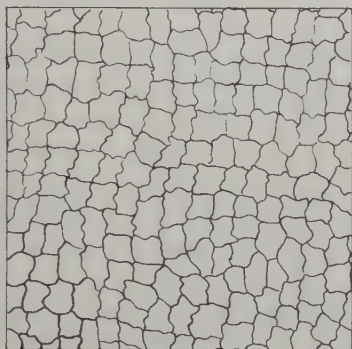


Abb. 8a

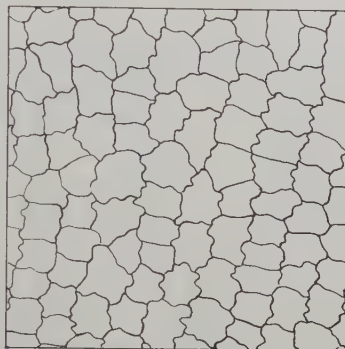


Abb. 8b

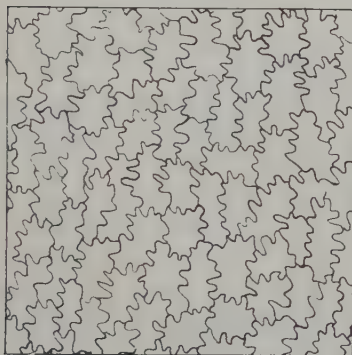


Abb. 9a

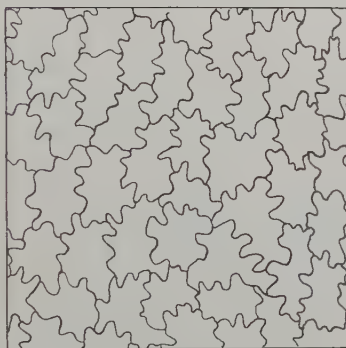


Abb. 9b

Abb. 8 und 9. Gleichgroße Ausschnitte aus dem Zellnetz der Petalenepidermen.

Abb. 8a u. b. Obere Epidermis: a *polita*, b *opaca*. Abb. 9a u. b. Untere Epidermis: a *polita*, b *agrestis*.

beruht die Petalengröße der Tetraploiden allein auf der genomatisch bedingten Zellvergrößerung?

αα) Die Anzahl der Epidermiszellen der Petalen der 4 *Agrestis*-Arten. Wir erinnern uns zur Beantwortung dieser Fragen daran, daß die Größe eines Organs nicht nur von der Größe der sie aufbauenden Zellen abhängt, sondern daß auch deren Zahl und Form eine wichtige Grundlage der Organisation bilden und daß diese eine eigene idiosynkratische Verankerung haben können (WETTSTEIN 1924, S. 197 und 1940, S. 383; SCHWANITZ 1950, S. 337). Wir haben uns somit zunächst über die Anzahl der Zellen, welche die Petalenepidermen der verschiedenen Arten zusammensetzt, Aufklärung zu verschaffen. Einen anschaulichen Anhalt dafür gewinnt man schon aus der Nebeneinanderstellung gleich großer entsprechender Stücke aus den Oberflächenbildern der Epidermen. Vergleichen wir so z. B. die in Abb. 8a und b gegebenen Bilder des jeweiligen Zellnetzes

der oberen Petalenepidermen von *V. polita* und *opaca*. Ein Blick darauf genügt, zu erkennen, daß am Aufbau der gleichgroßen Petalen der diploiden *polita* und der tetraploiden *opaca* Zellen in verschiedener Anzahl beteiligt sein müssen. Diese Beobachtung wurde durch die vergleichende Betrachtung der Epidermen zahlreicher Petalen dieser Arten bestätigt. Zu derselben Erkenntnis führt der Vergleich der Epidermen von *polita* und *agrestis*. Wir geben zum Beleg wiederum gleich große Stücke aus dem Zellnetz der unteren Epidermen beider Arten (Abb. 9a und b).

Um die Verhältnisse aber auf zahlenmäßige Grundlagen zu bringen, haben wir in der zeichnerischen Wiedergabe der Epidermen von Hälften der etwa gleichgroßen Petalen der verschiedenen Arten die Anzahl der Zellen geprüft. Das Ergebnis ist in folgender Tabelle 4 niedergelegt.

Die Zählungsergebnisse bestätigen unsere aus den direkten vergleichenden Beobachtungen, abgeleitete Erwartung, daß die Epidermen von *V. polita* sich aus einer erheblich größeren Anzahl von kleineren Zellen aufbauen, die der tetraploiden *V. opaca* und *agrestis* aus einer geringeren Anzahl größerer. Wir können die Annahme machen, daß die idiotypisch gesondert verankerte Zellzahl in diesen Fällen der genomatisch bedingten Zellgröße beim Zustandekommen der gleichgroßen Petalen der beiden tetraploiden Arten entgegengewirkt.

Tabelle 4. Das Verhältnis der Zellzahl und -größe der Petalenepidermen der diploiden *V. polita* und der tetraploiden *opaca* und *agrestis*.

	<i>polita</i>	<i>opaca</i>
Obere Epidermis.		
Größenverhältnis der geprüften Petalen . . .	1	1,06
Anzahl der Zellen	7500	4394
Verhältnis der Zellenzahl	1,7	1
Zellgrößen	2,2	3,6
Verhältnis der Zellgrößen	0,6	1
	<i>polita</i>	<i>agrestis</i>
Untere Epidermis.		
Größenverhältnis der geprüften Petalen . . .	1	1,02
Anzahl der Zellen	2580	1770
Verhältnis der Zellenzahl	1,5	1
Zellgrößen	5,0	6,5
Verhältnis der Zellgrößen	0,8	1

Welchen Anteil aber haben nun Zellzahl und Zellgröße beim Zustandekommen der erheblich größeren Petalen der *V. Tournefortii*? Zur Beantwortung dieser Frage haben wir das Verhältnis der Zellenzahl und Größe für *V. Tournefortii* und die beiden anderen Tetraploiden wie *V. polita* nebeneinandergestellt.

d) Das Verhältnis von Zellenzahl und Zellengröße der Petalenepidermen der drei tetraploiden Arten. Hier stehen 3 Arten einander gegenüber, welche gleichgroße Zellen haben, wie unsere vergleichenden Messungen ergeben. Wir haben somit ein ganz anderes Ergebnis als vorher zu erwarten. Wir stellen wiederum Anzahl der Zellen, Zellgröße und Petalengröße vergleichend nebeneinander.

Tabelle 5.

	<i>Tournefortii</i>	<i>opaca</i>
Obere Epidermis.		
Größenverhältnis der Petalen	1,2	0,66
Anzahl der Zellen	8791	4394
Verhältnis der Anzahl der Zellen	2	1
Zellgrößen	3,6	3,6
Verhältnis der Zellgrößen	1	1
Untere Epidermis.		
Größenverhältnis der Petalen	1,2	0,66
Anzahl der Zellen	3530	1770
Verhältnis der Anzahl der Zellen	2	1
Zellgrößen	7,9	6,5
Verhältnis der Zellgrößen	1,2	1

Wir erkennen aus der Zusammenstellung, daß die Größe der Petalen von *V. Tournefortii* gegenüber derjenigen der beiden anderen Tetraploiden im wesentlichen durch die Anzahl der Zellen bedingt ist. Bei *V. Tournefortii* mit der doppelten Zellenzahl fehlt also offenbar die idiosyncratisch veranlagte Tendenz, der petalenvergrößernden Wirkung der Genomverdoppelung entgegenzuwirken. Die Tetraploidie kann sich ungehemmt entfalten.

e) Das Verhältnis von Zellenzahl und Zellengrößen von *V. polita* und *V. Tournefortii*. Wir geben zunächst Ausschnitte aus den beiderseitigen Epidermen der Petalen von *V. Tournefortii* (Abb. 10a und b) zum Vergleich mit den gleichgroßen Ausschnitten aus den Petalenepidermen von *V. polita* (vgl. Abb. 8a und 9a) wieder. Sie machen die hier herrschende, den bisher betrachteten Fällen gegenüber abweichende Grundlage anschaulich. Während die Epidermen der kleinen Petalen von *V. polita*, wie wir sahen, aus zahlreichen kleinen Zellen aufgebaut sind, bestehen die der großen Petalen von *V. Tournefortii* aus ebenfalls zahlreichen, aber großen Zellen. Das gegenseitige zahlenmäßige Verhältnis stellt sich wie folgt:

Tabelle 6.

	<i>Tournefortii</i>	<i>polita</i>
Obere Epidermis.		
Größenverhältnis der Petalen	1,2	0,66
Anzahl der Zellen	8791	7500
Verhältnis der Anzahl der Zellen	1,2	1
Zellgrößen	3,6	2,2
Verhältnis der Zellgrößen	1,6	1
Untere Epidermis.		
Größenverhältnis der Petalen	1,2	0,66
Anzahl der Zellen	3530	2580
Verhältnis der Anzahl der Zellen	1,3	1
Zellgrößen	7,9	5,0
Verhältnis der Zellgrößen	1,6	1

Da die Petalenepidermen von *V. Tournefortii* verhältnismäßig nur wenig mehr Zellen aufzuweisen haben als die von *V. polita*, was besonders im Vergleich mit dem Verhältnis von *polita* zu *agrestis* und *opaca* (S. 10) auffällt, so dürften für die Größendifferenzen der Petalen beider Arten vornehmlich die Zellgrößen verantwortlich zu machen sein. Andererseits aber ist wohl damit zu rechnen, daß auch faktorielle Grundlagen in die Regulierung der Zellenzahl eingreifen. Das wird nicht nur durch die nicht zu übersehenden Unterschiede der Anzahl der Zellen beider Arten, sondern auch dadurch nahegelegt, daß wir bei *V. Tournefortii* Unterarten kennen, denen schon an sich genisch bestimmte Blütengrößendifferenzen zukommen (LEHMANN 1915, S. 110/111).

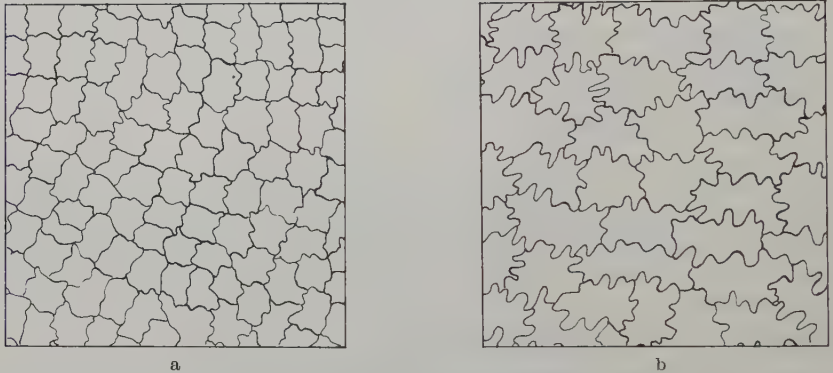


Abb. 10a u. b. Gleichgroße Ausschnitte aus den beiderseitigen Petalenepidermen von *V. Tournefortii*. a Obere, b untere Epidermis.

Unsere Gesamtbefunde erweisen, daß an der Größengestaltung der Petalen der Arten der *Veronica*-Gruppe *Agrestis* genomatisch bedingte Größe und idiotypisch bedingte Zahl der Epidermiszellen nebeneinander, teils gleichsinnig, teils gegensinnig, beteiligt sind. Es ist so in diesem Falle die Analyse einer mit Polyploidie verbundenen Leistungsgruppe möglich geworden.

Wir sind uns bewußt, daß die Zahlengrundlagen für diese Schlußfolgerungen noch eine weitere Fundierung finden müssen, vor allem auch um das Ausmaß der genischen Beteiligung noch klarer herausstellen zu können (vgl. S. 31).

2. Das Androezeum.

a) **Antherengrößen.** Die Messungen wurden an Antheren vorgenommen, welche noch geschlossen waren, da bei der Pollentleerung eine starke Schrumpfung stattfindet. Die Kurven (Abb. 11) wurden auf Grund von je 50 Messungen aufgestellt.

Auch hier sehen wir zunächst *V. Tournefortii* erheblich über der diploiden *V. polita* wie auch über den beiden tetraploiden Arten *V. opaca* und *agrestis* stehen. Bemerkenswert ist, den gleichgroßen Blütenblättern der letzten drei Arten gegenüber, daß *V. opaca* längere Antheren hat als *V. agrestis*, diese aber etwa ebenso lang sind wie diejenigen von *polita*. Das läßt auf genische Beteiligung an der Größenausprägung schließen, die sich natürlich besonders für die langen Antheren der *V. Tournefortii* den beiden anderen Tetraploiden gegenüber durchsetzt.

b) **Pollen.** Daß die Ausbildung des Pollens von äußeren Bedingungen wesentlich beeinflusst wird, ist eine allgemein bekannte Tatsache; sie machte sich auch bei den hier vorliegenden Arten bemerkbar (vgl. SCHMITZ, S. 28). Die so entstehenden Vergleichsschwierigkeiten ließen sich indessen in unserem Falle dadurch leicht umgehen, daß die Pollenentnahme zum Vergleich nur an sonnigen Tagen erfolgte. An solchen Tagen fallen die Blüten zudem schon wenige Stunden nach der Entfaltung wieder ab. So wurden auch aus verschiedenem Blütenalter drohende Fehler vermieden. (Vgl. dazu auch SCHWANITZ 1952, S. 273 und das auf S. 4 über die Blüten Ausgesagte.)

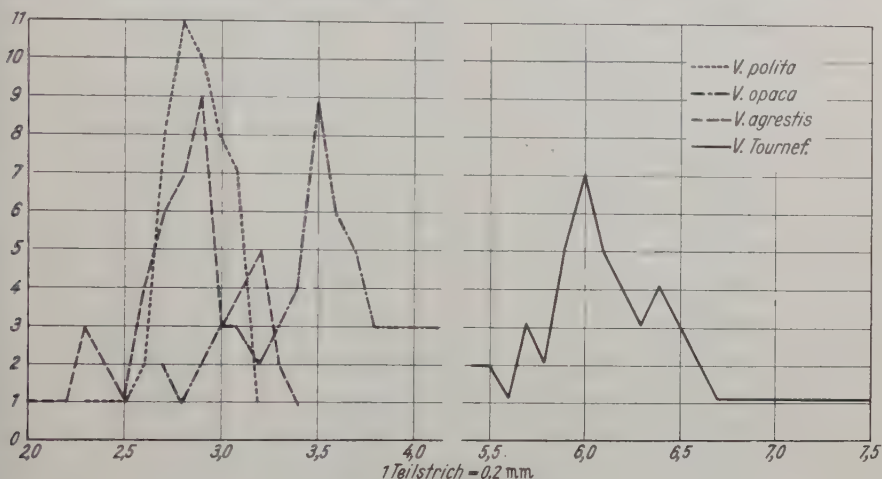


Abb. 11. Antherenlängen.

α) **Pollenfertilität.** Bei oberflächlicher Betrachtung erscheint der Pollen aller 5 *Agrestis*-Arten normal und gesund. Die drei tetraploiden Arten verhalten sich diesbezüglich also wie sehr viele andere polyploide Wildformen (MÜNTZING 1936, S. 313). Bei quantitativer Prüfung wurde indessen bei *V. opaca* ein etwas höherer Gehalt an tauben Pollenkörnern ermittelt (vgl. SCHMITZ), als bei den anderen Arten. Wir sind den Ursachen dieser Differenz nicht nachgegangen.

β) **Pollengröße.** Von den 5 *Agrestis*-Arten wurden jeweils 100 Pollenkörner aus frischerblühten Blüten mit dem ABBÉschen Zeichenapparat mit Objektiv $5\frac{1}{2}$ und Perisk. Ok. 10 gezeichnet und die erhaltenen Flächen mit dem Planimeter ausgewertet. Wir geben in Abb. 12 die aus diesen Messungen gewonnenen besonders eindrucksvollen Kurven für *V. polita* und *Tournefortii*; die übrigen Werte vgl. bei SCHMITZ.

Wiederum ist die Pollengröße der *V. polita* erheblich geringer als die der drei tetraploiden Arten. Wir können also damit rechnen, daß auch diese Differenz genomatisch bestimmt ist, nicht anders wie bei *V. prostrata*, deren Formen mit $n = 16$ etwa doppelt so große Pollen besitzen als die mit $n = 8$ (vgl. BRANDT 1953, S. 117). Für *V. polita* und *Tournefortii* hatte schon HUBER (1927) vergleichende Pollenmessungen angestellt und das Verhältnis $p:T = 1:1,5$ gefunden.

Bei Vergleich der Tetraploiden untereinander ergibt sich, daß *V. agrestis* und *opaca* etwa gleichgroße Pollen haben, *V. Tournefortii* aber erheblich größere.

Daß die sich darin aussprechende Faktorenwirkung für die Größenentwicklung des Pollens nicht nur von untergeordneter Bedeutung ist, erweist schon die Tatsache, daß die diploide *V. filiformis* sich hierin den 3 Tetraploiden stark nähert.

γ Pollenbild. Es konnten 2 Pollenformen unterschieden werden: eine ist rund bis leicht quadratisch, die andere mehr dreieckig bis rundlich. Die erstere Form wiesen die Arten *opaca*, *agrestis* und *Tournefortii* auf; die letztere herrscht bei *V. polita* und etwas weniger ausgesprochen bei *filiformis*. Es besteht also eine Beziehung zur genomatischen Valenz (vgl. das Nähere bei SCHMITZ).

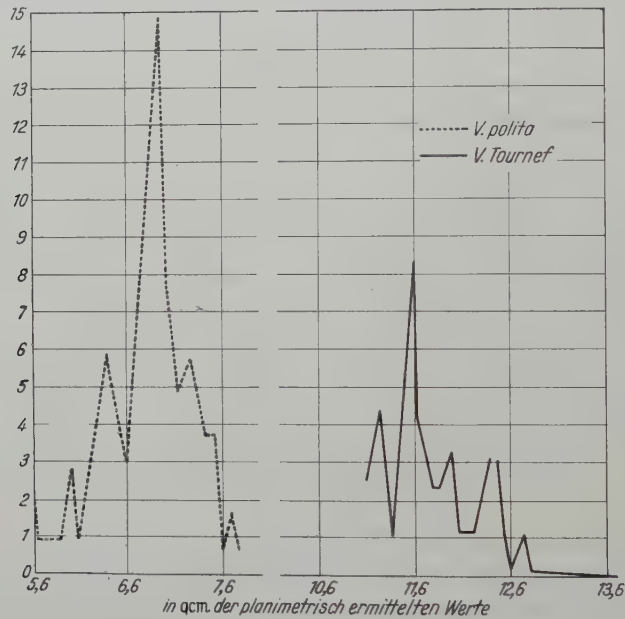


Abb. 12. Pollengröße.

3. Das Gynaezeum.

a) **Der Fruchtknoten.** Der Fruchtknoten von *V. polita* zeichnet sich wieder durch besondere Kleinheit aus (Abb. 13a und b). Die 3 Tetraploiden schließen sich in der Reihenfolge *agrestis* < *opaca* < *Tournefortii* an. Auffallend ist hier die große Variationsbreite.

b) **Die Kapseln.** Auch beim Heranwachsen zur Kapsel bleibt *polita*, trotz ihrer zahlreichen Samen, an Größe hinter den Kapseln der 3 Tetraploiden zurück. *V. opaca* und *agrestis* sind nach unseren Messungen — trotz der etwas seitlich vorgezogenen Kapsellappen der *opaca* — an Breite der *polita* genähert. Daß aber auch bei der endgültigen Ausgestaltung der Kapseln, die ja sicher auf recht komplexen Grundlagen beruht, faktorielle Einflüsse eine wesentliche Rolle spielen, erweist die so verschiedene Gestalt der Kapseln der 3 Tetraploiden, erweisen vor allem die erheblich größeren Maße der Kapseln der *Tournefortii* (Abb. 14a und b) wie auch ihr überaus breiter Ausrundungswinkel.

Instruktiv ist in diesem Zusammenhange zum Vergleich wiederum ein Beispiel aus der Gruppe *Pentasepala*. Die Kapselgrößen der Arten dieser Gruppe steigen im allgemeinen mit der genomatischen Valenz, jedenfalls von der

Diploidie bis zur Hexaploidie; die oktaploiden haben etwas kleinere Kapseln. Aus dieser Reihe aber fällt *V. austriaca* ssp. *orbiculata* ($n = 16$) mit ihren ausgesprochen runden, erheblich größeren Kapseln als die der übrigen Formen heraus (vgl. SCHEERER 1936/37, S. 322).

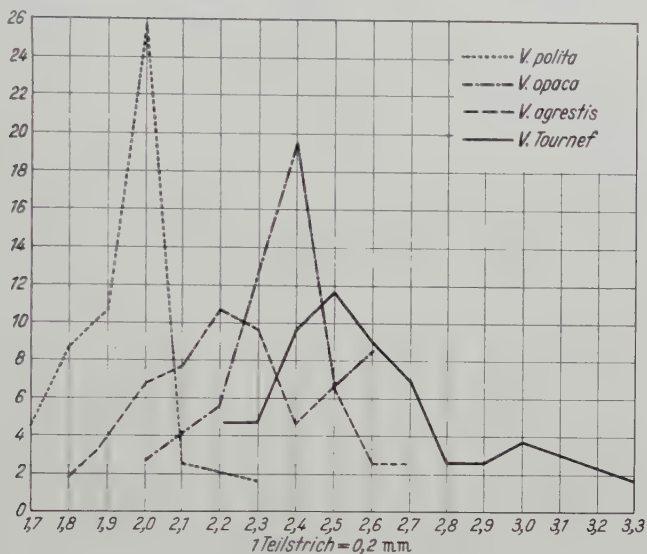


Abb. 13a. Fruchtknotenlänge.

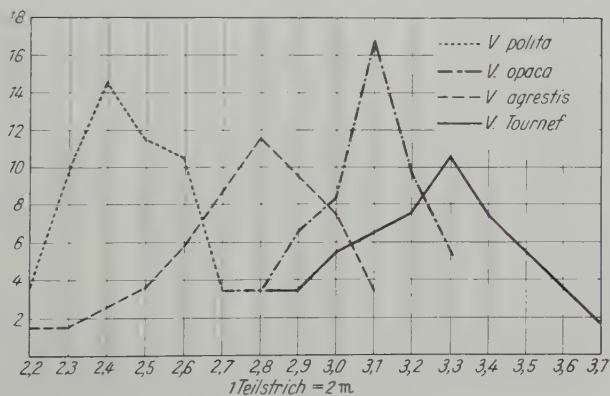


Abb. 13b. Fruchtknotenbreite.

c) Griffellänge. Wir geben das Kurvenbild unserer Messungen: in Abb. 15.

In gewohnter Weise übertrifft *V. Tournefortii* um ein Erhebliches *V. polita* an Griffellänge. Wir können das durchaus auf genomatische Grundlage zurückführen. Ganz abweichend ist in dieser Beziehung aber das Verhalten von *V. polita*. Ihr Griffel ist erheblich länger als der der beiden Tetraploiden *agrestis* und *opaca* (vgl. schon FRESenius 1851, Tafel XIV). Bei diesen müssen wir wieder das Eingreifen der vergrößernden genomatischen Tendenz entgegenwirkender Faktoren annehmen. Diese scheinen bei *agrestis* stärker zu wirken als bei *opaca* (vgl. dazu auch wiederum FRESenius wie DRABBLE and LITTLE 1931). Bei

polita und *Tournefortii* fehlen diese das Längenwachstum hemmenden Faktoren aber offenbar ganz. Um so stärker finden wir im Gegensatz die Griffellänge fördernde Faktoren schon auf diploider Basis bei *V. filiformis*; ihre Griffel erreichen 3—4 mm (Messungen von LEHMANN und Literaturangaben).

Dieser Befund ist auch für andere Gruppen aufschlußreich. Wenn z. B. die tetraploide *V. biloba* mit 0,4—0,9 mm Griffellänge hinter

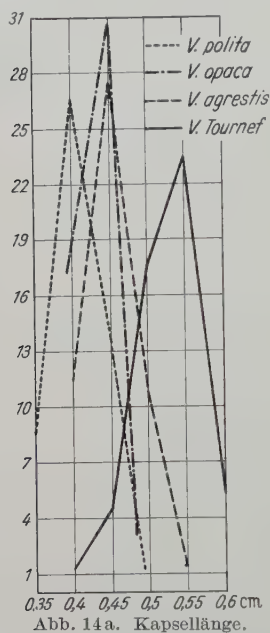


Abb. 14a. Kapsellänge.

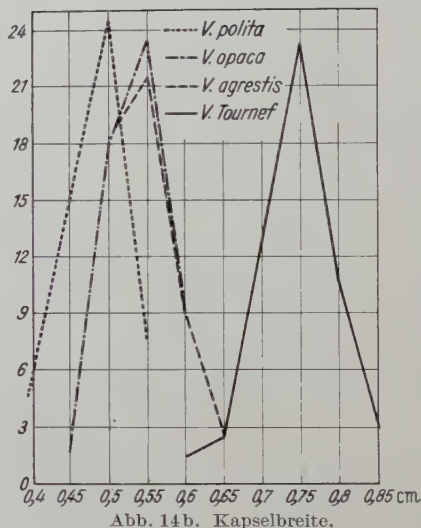


Abb. 14b. Kapselbreite.

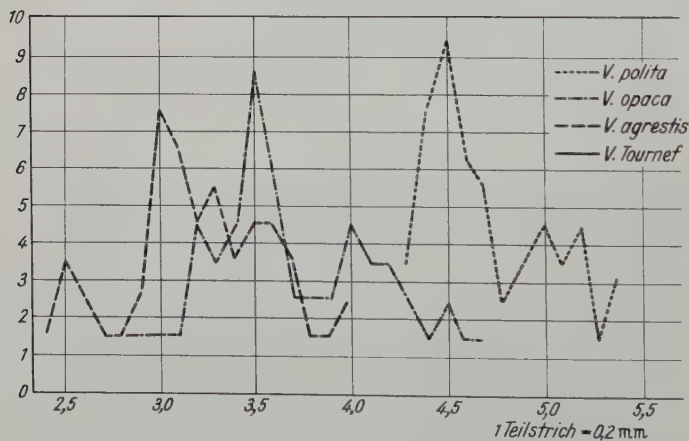
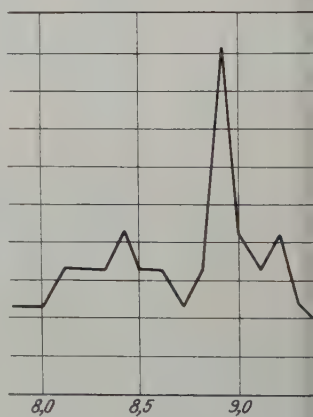


Abb. 15. Griffellänge.



derjenigen der hexaploiden, nahe verwandten *V. campylopoda* mit 0,9—1,6 mm langen Griffeln erheblich zurücksteht (LEHMANN 1910, S. 584, ZÜNDORF 1939), so wird man das wohl wie bei *polita* und *Tournefortii* auf genomatische Grundlagen zurückführen dürfen. Immerhin wäre es erwünscht, noch andere Arten aus dieser Gruppe zur Erweiterung des Befundes heranzuziehen; gibt es ja solche in der Gruppe *Biloba* noch in erheblicher Zahl, wenngleich sie leider zur Zeit schwer beizubringen sind.

4. Die Samen.

a) **Samengröße und Samenzahl.** In der Samengröße (Abb. 16) steht *V. polita* den drei tetraploiden Arten gegenüber stark zurück. Dafür haben wir zweifellos Genomwirkung als Ursache anzunehmen, nicht anders, wie BRANDT (1953, S. 113) die großen Samen der *V. prostrata*-Form mit $n = 16$ den kleineren der Form mit $n = 8$ gegenüber auf solche zurückführt.

In unserem Falle aber greifen offensichtlich wieder Faktoren in die differente Größengestaltung der Samen der Tetraploiden ein. Ob das geringe, dem sonstigen gegenseitigen Verhalten der Arten zuwiderlaufende Zurückbleiben der Samengröße von *V. opaca* hinter der von *agrestis* wirklich faktoriell erklärt werden soll, kann wegen der großen Variation bei relativ geringer Variantenzahl nicht entschieden werden. Dagegen hätte man zunächst für wahrscheinlich erachtet, daß die Samen der *V. Tournefortii* dem gewohnten Verhalten dieser Art entsprechend größer wären als die der beiden anderen Tetraploiden. Daß dieses nicht der Fall ist, wird vielleicht nach Betrachtung der Samenzahl je Kapsel verständlich.

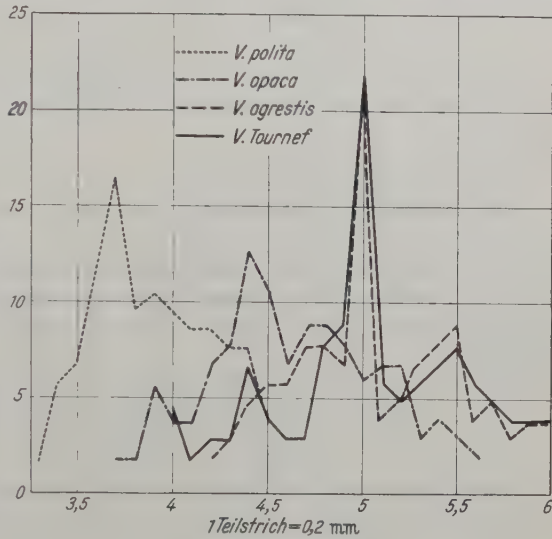


Abb. 16. Samengröße.

Samenzahl. Bei der Auszählung der Samen von je 50 Kapseln der 4 Unkrautarten wurden die folgenden Mittelwerte erhalten:

<i>V. polita</i>	21,5
<i>V. Tournefortii</i>	15,8
<i>V. agrestis</i>	11,0
<i>V. opaca</i>	10,3

Diese Werte stimmen mit sorgfältigen früheren Zählungen anderer Autoren überein (FRESENIUS 1851, S. 658, ASCHERSON und GRÄBNER, Fl. NO-deutsch. Flchl. 1898/99, S. 640 und LEHMANN 1907, S. 469).

Zweifellos haben diese Zahlendifferenzen mit genomatischer Valenz nichts zu tun. Sie sind sicher faktoriell bedingt. Das wird auch dadurch nahegelegt, daß sich schon die beiden Unterarten der diploiden *polita*: *Thellungiana* und *Ludwigiana* durch ihre Samenzahl (22 bzw. 18 je Kapsel) unterscheiden (LEHMANN 1909, S. 257).

Sind aber die Samenzahl bestimmende Faktoren beteiligt, so ist es verständlich, daß sich diese ihrerseits auch auf die genomatisch bestimmten Samengrößen der verschiedenen Arten auswirken. Die besonders zahlreichen Samen der *polita* sind am kleinsten; wenn es aber bei *V. Tournefortii* ungewöhnlicherweise den übrigen Tetraploiden gegenüber zu keiner Vergrößerung der Samen kommt,

so mag das ebenfalls mit der gesteigerten Samenzahl dieser Art zusammenhängen.

Daß aber diese Beziehungen keineswegs ohne weiteres glatt zu durchschauen sind, wird dem nicht zweifelhaft sein, der die überaus komplexen, verschiedenen Wachstumsvorgänge der Samen der gleichchromosomigen, hexaploiden Arten *V. campylopoda* und *arguteserrata* der nahe verwandten Gruppe *Biloba*, die ZÜNDORF (1939) analysierte, kennt.

b) **Kapselstiellänge.** Für die Kapselstiellänge liegen nur die folgenden vergleichenden Messungen an Herbarmaterial von *V. Tournefortii* und *polita* vor:

Tabelle 7

	0,4—0,8 cm	0,9—1,3 cm	1,4—1,8 cm	1,9—2,4 cm	2,4—3,2 cm
<i>V. polita</i>	13	20	2		
<i>V. Tournefortii</i>		12	8	14	3

Die tetraploide *Tournefortii* hat also im Durchschnitt erheblich längere Kapselstiele als die diploide *polita*, was sicher genomatisch bedingt sein dürfte. Dennoch müssen auch bei der Regulierung der Kapselstiellänge faktorielle Einflüsse eine bedeutsame Rolle spielen. Das erweist schon die Tatsache, daß die Kapselstiellänge der diploiden *V. filiformis* mit etwa 4 mm bei weitem die größte ist.

II. Vergleich der vegetativen Organe bzw. Organteile der Arten der Gruppe *Agrestis*.

1. Größe von Keimblättern und Laubblättern.

Die Kurven für die Keimblatt- und Laubblattgrößen stimmen im wesentlichen überein. Wir beschränken uns deshalb auf die Wiedergabe derjenigen

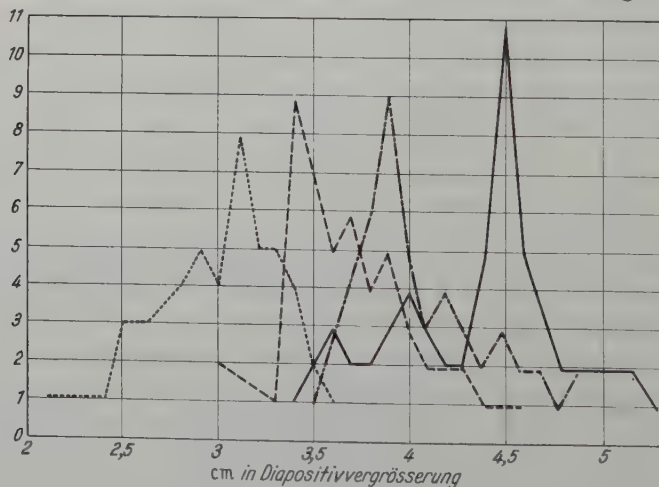


Abb. 17 a. Keimblattbreite.

..... *V. polita*; - · - *V. opaca*; - - - *V. agrestis*; — *V. Tournefortii*.

für die Keimblätter und führen die Laubblattmessungen nur die entsprechenden Zahlenwerte — am 1.—4. Blatt gemessen — an:

V. polita steht den 3 Tetraploiden gegenüber an Länge und Breite (Abb. 17a und b und Tabelle 8) der Blattorgane erheblich zurück. Bei den Tetraploiden ergibt die Längenmessung die Reihenfolge *opaca* < *agrestis* < *Tournefortii*: in der Breite wechseln demgegenüber *opaca* und *agrestis* ihre Stellung. Jede gute Flora zeigt schon, daß

Tabelle 8.

	Länge M	Breite M
<i>V. polita</i> . .	0,85	0,81
<i>V. agrestis</i> . .	1,08	0,95
<i>V. opaca</i> . .	1,08	1,23
<i>V. Tournefortii</i>	1,23	1,33

V. opaca breitere, *V. agrestis* länglichere Blätter besitzt. Es ist somit eine genische Regulation des Längen-Breitenverhältnisses bei beiden Arten eingetreten.

2. Spaltöffnungsfläche.

Es wurden entsprechende Stücke der unteren Epidermis von Blättern der 4 Arten entfernt und in Carnoy eingelegt, von wo sie in Glyzerin überführt wurden. Dann wurden die Spaltöffnungen zeichnerisch wiedergegeben und die Fläche planimetrisch ausgewertet (Abb. 18).

Es ergeben sich die Flächeninhalte in der Reihenfolge: *polita* < *agrestis* < *opaca* < *Tournefortii* mit starker Anlehnung der *opaca* an *Tournefortii*.

III. Zusammenfassung der Messungsergebnisse und Schlußfolgerungen aus ihnen.

Wir haben in folgender Tabelle 9 die Messungsergebnisse für die einzelnen Merkmale zusammengestellt. Es ergibt sich das Folgende:

Bei allen Merkmalen, abgesehen von der Samenzahl und Griffellänge, weist die diploide *V. polita* weitaus die niedersten, die tetraploide *V. Tournefortii* mit Ausnahme der Samenzahl die höchsten Werte auf. Wir können nicht daran zweifeln, daß diese Differenzen im wesentlichen genomatisch bedingt sind.

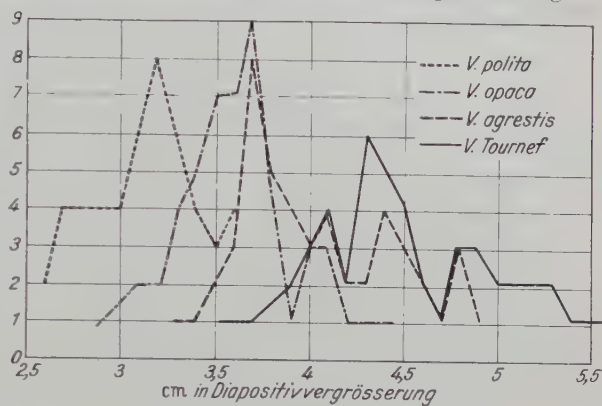


Abb. 17 b. Keimblattlänge.

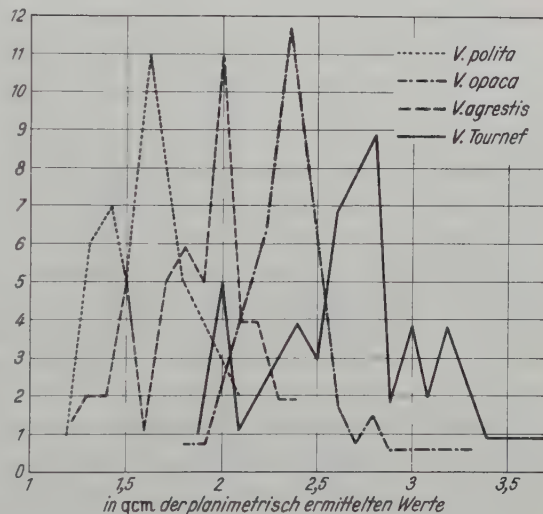


Abb. 18. Spaltöffnungsfläche.

Tabelle 9. Übersicht der

Arten	Blüten- größe	Zellgrößen der Petalenepiderme		An- theren- länge	An- theren- länge	Fruchtknoten		Griffel- länge
		obere	untere			Länge	Breite	
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>V. polita</i> n = 7	0,66	2,2	5,0	2,8	6,8	1,94	2,45	4,7
<i>V. agrestis</i> n = 14	0,66	3,1	6,5	2,8	10,0	2,24	2,77	3,2
<i>V. opaca</i> n = 14	0,66	3,6	7,8	3,4	9,8	2,39	3,05	3,7
<i>V. Tournefortii</i> n = 14	1,20	3,6	7,9	6,2	11,4	2,57	3,23	8,7

Auch die Werte der beiden anderen Tetraploiden: *V. agrestis* und *opaca* übertreffen diejenigen der *V. polita* in den meisten — 13 von 17 — Merkmalen erheblich, wenn sich auch die erhöhte Valenz hier nicht so stark durchsetzt wie bei *Tournefortii*. Daneben treten Merkmale auf, die ausgesprochen genisch beeinflußt erscheinen. Das gilt auch hier vornehmlich für die Samenzahl, die Griffellänge und zum Teil auch die Blattgröße. Zum anderen hatten wir durch Zählung und Messung der Epidermiszellen der Petalen das Zusammenwirken von genomatischer Valenz und genischer Veranlagung bei der Größenausprägung der Petalen der *Agrestes* analysiert (vgl. dazu S. 9).

Wir können das gegenseitige Verhältnis der Größenwerte der 4 Arten am besten veranschaulichen, wenn wir sie in Gesamtprozenten von *V. Tournefortii* darstellen. Wir erhalten dann: *polita* 62%, *agrestis* 75%, *opaca* 81% der Werte von *V. Tournefortii* = 100. So wird einmal das erhebliche Zurückbleiben der Werte von *V. polita* hinter denen von *V. Tournefortii*, zum anderen das stärkere Hinneigen der *opaca* zu *V. Tournefortii* (gegenüber *agrestis*) besonders klar.

Zu den genisch unabhängig von der genomatischen Valenz bestimmten, quantitativen Differenzen treten dann noch in erheblicher Anzahl qualitativ wirkende Gene, welche die Arten unterscheiden, hinzu. Das gilt zunächst für die scharf differenzierende Kapselbehaarung von *agrestis*, *polita* und *opaca* (FRIES, WIESBAUR), es gilt für die Behaarung des Kelches dieser Arten wie die des Stengels von *Tournefortii* und *filiiformis* (THALER). Ferner sind hierunter zu nennen die Kelchblattform (breit oder schmal), die Blattform (*polita*, *Tournefortii* usw.), in ausgesprochenem Maße auch die Blütenfärbung; dunkelblau und hellblau bis weißlich treten bei den beiden Tetraploiden *V. opaca* und *agrestis* nebeneinander auf, abgesehen von wechselnden Farbtönen bei verschiedenen Varianten und der Färbungsmannigfaltigkeit der Unterarten von *V. Tournefortii* und ihrer Bastarde. Hervorzuheben ist schließlich, daß auch die grüne Blattform, die ja oftmals zur Polyploidie in Beziehung gebracht wird (vgl. MÜNTZING 1935/36, S. 283), hier offenbar genisch bedingt ist, dunkelgrün bei *opaca*, hellgelblichgrün bei *agrestis* (vgl. auch SCHWANITZ 1951, S. 31).

einzelnen Messungsergebnisse (Mittelwerte).

Kapseln		Samen		Keimblatt		Laubblatt		Spalt- öffnung Fläche	Summe der Werte außer 12	Prozente der Werte von <i>Tourne- fortii</i> (= 100)
Länge	Breite	Länge	Zahl	Länge	Breite	Länge	Breite			
9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
0,40	0,48	3,9	21,8	3,1	2,9	0,85	0,81	1,58	40,57	62
0,45	0,54	5,0	11,0	4,0	3,7	1,08	0,95	1,86	48,79	75
0,43	0,54	4,6	10,3	3,6	4,3	1,08	1,23	2,45	52,63	81
0,52	0,74	5,0	15,8	4,5	4,2	1,23	1,33	2,63	64,95	100

E. Ökologische Ansprüche und Differenzen der Verbreitung.

I. Allgemeines.

Auf das Interesse, ökologischen Differenzen bei unseren Arten nachzugehen, hat LEHMANN (1908, S. 425) mit folgenden Worten hingewiesen: „Es scheint mir aber wichtig zu sein, gerade bei diesen leicht verschleppbaren Ackerunkräutern, die einander so ungeheuer ähnlich sind, auf die bestimmten, differenten Arealgrenzen hinzuweisen. Denn weil die Pflanzen so leicht verschleppt werden, kann man nicht annehmen, daß Trennungsfaktoren historisch-geologischer Art von besonderer Bedeutung sind; dann liegt aber der Gedanke nicht fern, daß auch bei solchen Pflanzen, bei denen man über die Art der Verbreitung nichts Bestimmtes weiß, auch dann, wenn keineswegs eine Anpassung an verschiedene Bedingungen äußerlich erkennbar ist, sehr häufig die innere Disposition das Verhalten der Arten den klimatischen Faktoren gegenüber bestimmen kann, und die historisch-geologischen Faktoren in zweite Linie drängt.“

Wir haben nun zu verfolgen, wie wir heute auf Grund der neuen Untersuchungen dazu beitragen können, diese „innere Disposition“ den ökologischen Bedingungen gegenüber nach Möglichkeit zu erfassen. Das aber bedeutet in unserem Zusammenhange die Erfassung der genomatischen bzw. genischen Grundlagen der Reaktionen auf die Umwelt.

II. Die Ansprüche der Arten im einzelnen.

1. In der Heimat.

Die drei im Osten beheimateten Arten *V. polita*, *Tournefortii* und *filiiformis* zeigen schon dort erheblich verschiedene ökologische Ansprüche (LEHMANN 1942, S. 473). Als wesentlichste Differenzen ergeben sich die folgenden:

V. polita wird vornehmlich als Steppenpflanze (BORNMÜLLER) charakterisiert.

V. Tournefortii verhält sich ähnlich, wird aber auch unter Gehölzen, Hecken, an Hängen und Flußufern genannt.

Von diesen ursprünglichen Standorten sind beide Arten schon in den Heimatgebieten, bis hin zum Himalaya (PENNEL 1943, S. 78) reichlich in Kulturländer verschiedener Art übergegangen.

V. filiformis dagegen bewohnt in ihrer kaukasischen Heimat lichte Wälder, subalpine Wiesen und Weiden, ohne etwa in Äcker vorzudringen.

2. In Europa.

Sehr eingehend sind die ökologischen Ansprüche aller 5 Arten in dem derzeitigen gemeinsamen Verbreitungsgebiet in Europa studiert worden. Wir geben darüber die folgende Übersicht, bei welcher wir uns vornehmlich auf die folgenden Autoren stützen: LEHMANN (1906, 1908, 1942, S. 482), BUCHLI (1936) und ELLENBERG (1950).

a) *Edaphisch bedingte Differenzen.* *V. polita* (n = 7): Lehmige und schwere Böden (L.), p_{H} 7—8,5 (B.), neutral-alkalisch, stickstoffreich, fast ausschließlich auf garem Boden (E.).

V. agrestis (n = 14): Sandige, kiesige Böden (L.), schwach sauer bis alkalisch, stickstoffreich, mittelgar bis gar (E.).

V. opaca (n = 14): Noch ungeklärt (L.), schwach sauer, stickstoffreich, vorwiegend gar (E.).

V. Tournefortii (n = 14): Weitgehende Bodenunabhängigkeit, im allgemeinen eurytop (L.), p_{H} 6,5—9, basophil (B.), stark sauer über indifferent bis alkalisch-stickstoffreich, mittelgar (E.). — Bevorzugt schweren Lehm, fehlt auf leichtem Sand, Zeiger für neutrale Bodenbedingungen (RAABE 1949). — All types of soil, including chalk (BRECHLEY 1911).

V. filiformis (n = 7): Feuchter, auch saurer humoser bis etwas torfiger Boden; nährstoffreicher Lehm Boden, etwas stickstoffliebend (OBERDORFER, S. 327).

b) *Klimatische Bedingungen und Verbreitung.* *V. polita*: Durch das ganze Mittelmeergebiet und das gemäßigte Asien (LEHMANN 1907) gemein; nach Süden zu in die Gebirge ansteigend und dort in größeren Höhen zu finden. Auch im südlichen Europa diesseits der Alpen ist die Art häufig; nach Norden zu wird sie immer seltener, ELLENBERG zählt sie zu den Unkräutern, welche die Nordgrenze des Feldahorns erreichen, diese aber nicht wesentlich überschreiten. In Mitteleuropa findet sie im Gebirge bei 500 m ihre Verbreitungsgrenze. Sie bedarf mehr Licht zum Blühen als *V. agrestis* und *opaca*.

V. agrestis: Ist im Mittelmeergebiet umgekehrt eine sehr seltene Pflanze, die fast ausschließlich im Gebirge vorkommt. Auch nördlich der Alpen bleibt sie in tieferen Lagen zunächst selten, wird aber nach Norden zu immer häufiger; in Norddeutschland ist sie die bei weitem gewöhnlichste, mancherorts einzige Art der Gruppe. In den Mittelgebirgen steigt sie bis zu etwa 1000 m empor. Nach ELLENBERG macht sie an der Eichengrenze halt; sie ist subatlantisch.

V. opaca: Fehlt dem Mittelmeergebiet völlig. Nördlich der Alpen schließt sie sich *V. agrestis* an, verhält sich aber etwas weniger extrem als diese. Sie ist ausgesprochen kontinental gerichtet.

V. Tournefortii: Ist auch in all den, den übrigen Arten klimatisch zusagenden Gebieten vertreten, nur geht sie offenbar (noch?) nicht so weit nördlich (vgl. LEHMANN 1942, S. 482) HEGI (VI, 1, 53) gibt als Höhengrenze in den Alpen 1600 m an (vgl. dazu auch VOLKART, 1933). Sie blüht in Mitteleuropa, sowie der Schnee auch nur stellenweise weicht, fast den ganzen Winter hindurch. Sie ist somit sehr kältewiderstandsfähig.

V. filiformis: Bevorzugt feuchte, subalpine oder der Meeresküste genährte Gebiete, die nicht zu trockene Sommer haben und wo sie auch nicht durch unzeitige Fröste geschädigt wird.

III. Die ökologischen Differenzen in Beziehung zur genomatischen und genischen Grundlage.

Für unsere Problematik läßt sich aus der Übersicht das Folgende entnehmen:

Schon auf der diploiden Grundlage ergeben sich erhebliche ökologische Differenzen. Wir sehen, daß *V. polita* und *V. filiformis* sehr verschiedene Ansprüche nach edaphischer wie klimatischer Richtung stellen. Diese können natürlich nur genisch bedingt sein. Auch für die tetraploiden Arten ist die genische Bedingtheit von wesentlicher Bedeutung. Mit ihr kombiniert kommt aber auch die

genomatische Valenz zur Wirkung, nur bei den einzelnen Arten, der jeweiligen genischen Grundlage entsprechend, verschieden.

Wenn *V. agrestis* und *V. opaca* besondere Lebensumstände edaphischer wie klimatischer Art zu meistern vermögen, welchen *V. polita* nicht gerecht werden kann, so können wir das mit HAGERUP (1932) und TISCHLER (1934) auf die Tetraploidie zurückführen, wenngleich HEISER und WHITAKER (1948, S. 185) diesen Gesichtspunkten für Ackerunkräuter nicht Raum geben möchten. Sicher aber spielt die tetraploide Veranlagung eine ausschlaggebende Rolle bei *V. Tournefortii*, welche mit all den ökologischen Gegebenheiten, die den anderen 3 Arten jeweils nur zum Teil angemessen sind, fertig wird (vgl. dazu MÜNTZING 1935/36, S. 326).

F. Schlußfolgerungen aus den bisherigen Erkenntnissen für die Frage der Entstehung der verschiedenen *Agrestis*-Arten.

I. Die Herkunft der *V. Tournefortii*.

Daß die Annahme von BEATUS, *V. Tournefortii* sei durch Genomverdoppelung aus *V. filiformis* hervorgegangen, nicht zutreffen kann, hat LEHMANN (1940, S. 507) schon eingehend begründet. Diese Begründung gewinnt durch die Betonung der erheblichen morphologischen und anatomischen Unterschiede beider Arten durch THALER (1951) eine wesentliche Stütze. Eine willkommene ergänzende Klärung der Sachlage könnte noch dadurch erreicht werden, daß auf dem Wege der Colchizinierung von *V. filiformis* ermittelt würde, welche Eigenschaften diese Art im tetraploiden Zustande aufwies. Fräulein CZERNY hatte solche Untersuchungen im Tübinger Botanischen Institut schon zu aussichtsreichen Resultaten geführt, mußte die Arbeit aber im Zuge der Zeit einstellen.

BEATUS hatte auch die Möglichkeit ventiliert, *V. Tournefortii* sei aus Kreuzung von *V. filiformis* und *polita* hervorgegangen. Die Unwahrscheinlichkeit einer solchen Entstehung aber hatte er selbst schon dadurch begründet, daß *V. Tournefortii* ja dann eine Allopoloide sein müßte, wogegen die relativ häufigen Multivalenten in ihrer Meiose sprechen. Nunmehr steht einer solchen Annahme auch das völlige Versagen der Kreuzungen zwischen *V. filiformis* und *V. polita* entgegen (vgl. SCHMITZ).

Es blieb demnach in der Heimat nur *V. polita* als Herkunftsart für *V. Tournefortii* übrig. Durch unsere im Vorhergehenden dargelegten Untersuchungen konnte diese Auffassung genügend begründet werden. Unsere Messungen ließen ja erkennen, daß fast alle Merkmale der *V. Tournefortii* um ein Viertel bis zur Hälfte gesteigerte Werte *polita* gegenüber aufweisen. Wir erinnern im besonderen auch an die vornehmlich genomatisch bedingte Vergrößerung der Zellen der Petalenepidermen von *Tournefortii* gegenüber *polita* (vgl. S. 11). Schon rein äußerlich aber macht *V. Tournefortii* den Eindruck einer vergrößerten Ausgabe von *V. polita*. Das wird besonders deutlich beim Vergleich der Unterarten *V. polita Ludwighiana* und *V. Tournefortii Aschersoniana* auf der einen Seite, *V. polita Thellungiana* und *V. Tournefortii Corrensiana* auf der anderen. Daß neben der Genomverdoppelung auch allerlei genische, mutative Änderungen auf dem Entwicklungswege von *V. polita* zu *V. Tournefortii* liegen, ist selbstverständlich. Auch hier wäre es lohnend, durch Colchizinierung der *V. polita* die Probe aufs Exempel zu machen, was genomatische, was genische Grundlagen hat.

In der freien Natur mag zur Polyploidisierung der *polita* wohl gelegentliche Verschleppung in höhere Gebirgslagen, in denen ja *Tournefortii* im Gegensatz zu *polita* gut gedeiht oder auch Übergang in Kulturformationen im Osten den Anlaß geboten haben (vgl. dazu GUSTAFSSON 1948, S. 21).

Für die Bildung der tetraploiden Arten *V. agrestis* und *V. opaca* stand ebenfalls als einzige Art *V. polita* zur Verfügung. Sie allein aus diesem Verwandtschaftskreis lebte in den Gebieten, welche heute *V. agrestis* und *opaca* in Europa beherbergen. Auch bei ihnen steht Genomverdoppelung mit Zellvergrößerung, die wir in den Epidermiszellen der Petalen nachweisen konnten, sicher am Anfang. Nur ist diese Genomverdoppelung und Zellvergrößerung nicht von Organvergrößerung gefolgt, da sie durch eine Verringerung der Anzahl der Zellen verhindert wird. Die Arten verhalten sich also wie andere, bei denen Polyploidie nicht mit morphologischen Gigaseigenschaften verbunden ist. Vor Feststellung der Chromosomenzahl hatte niemand an Polyploidie dieser beiden Arten denken können. Dabei aber möchte BEATUS der *V. agrestis* auf Grund ihrer geringeren Multivalentenzahl ein höheres Alter zuschreiben als *V. opaca* und *Tournefortii*.

II. *V. filiformis*.

Über die Herkunft dieser Art können wir nichts aussagen. Aber schon bei der soeben erörterten Vorstellung, *V. Tournefortii* von *V. filiformis* herzuleiten, haben wir auf die vielen tiefgreifenden Unterschiede morphologischer wie ökologischer Natur zwischen den beiden Arten hingewiesen. Unsere vergleichenden Untersuchungen hatten immer mehr erkennen lassen, daß *V. filiformis* auch den anderen Arten der Gruppe gegenüber eine Sonderstellung einnimmt. Bezüglich der Folgeerscheinungen der genomatischen Struktur fällt sie jedenfalls fast völlig aus dem für die übrigen Arten gültigen Rahmen heraus. Ihre Konstitution scheint diesen gegenüber so stark verändert, daß sie einen direkten Vergleich auf dieser Grundlage nicht mehr zuläßt.

Dennoch dürften mit Hinblick auf diese Art noch einige kurze Hinweise angezeigt sein.

V. filiformis ist, im Gegensatz zu den übrigen Arten der Gruppe, selbststeril (LEHMANN, 1944, S. 395). Daß für diese Eigenschaft sicher nicht die Diploidie der Art direkt verantwortlich gemacht werden kann, wurde in der angeführten Arbeit in breitem Rahmen erörtert. Daß aber dennoch zwischen Selbststerilität und Polyploidie gewisse Beziehungen bestehen können, wurde seitdem einmal von GUSTAFSSON (1948) ausgeführt; besonders aber wurde es durch die Überführungen diploider Selbststeriler in tetraploide Selbstfertile mittels Colchizinierung bei *Antirrhinum* (STRAUB 1941, S. 296) und *Oenothera organensis* (LEWIS 1943, 1946) erwiesen. Aus den aufschlußreichen Untersuchungen des letzteren geht hervor, daß die Entscheidung über die Realisierung von Selbststerilität oder Selbstfertilität weitgehend von dem gegenseitigen Verhalten der jeweiligen Allele in den tetraploiden Pflanzen abhängt.

Nicht selten wird davon gesprochen, daß *perennierende Unkräuter* mit der Fähigkeit ununterbrochener vegetativer Fortpflanzung häufiger polyploid seien als einjährige. GUSTAFSSON (1948, S. 2) macht nähere Ausführungen darüber. Für *V. filiformis* trifft das aber ebensowenig mit Hinblick auf die genomatische Valenz zu wie für die tetraploiden *Agrestes* mit Hinblick auf die perennierende

Lebensform. *V. filiformis* ist in obigem Sinne perennierend, aber diploid, die tetraploiden *Agrestis* aber sind im Gegenteil annuell (vgl. dazu auch HEISER und WHITAKER 1948, S. 185).

Allgemein kommt dann nach SCHWANITZ (1950, S. 353) „als weiteres Charakteristikum der Polyploidie“ die verstärkte Neigung zu asexueller Fortpflanzung hinzu, wofür er eine Reihe von Beispielen anführt. Auch in diesem Sinne liegen die Verhältnisse in unserer Gruppe gerade umgekehrt. Wenn dagegen GUSTAFSSON (1947, S. 76) ausführt: „Vegetative reproduction readily occurs even in the diploid stage“, so würde das für unseren Fall zutreffen, zudem gibt er (1948, S. 2) Prozentzahlen des Anteils der Polyploiden bei den verschiedenen Lebensformen der Ackerunkräuter und kommt hierbei zu ähnlichen Ergebnissen wie CLARK und FLETCHER (1909) für die kanadischen und HEISER und WHITAKER (1948) für die kalifornischen Unkräuter (vgl. dazu auch STEBBINS 1938).

G. Die erblichen Vorgänge innerhalb der Arten.

I. Die Unterarten.

Für die zur Erörterung stehenden Beziehungen zwischen Entwicklung innerhalb der Gruppe *Agrestis* und der genomatischen Valenz bzw. genischen Grundlage ist nun noch von Interesse, zu erfahren, was über die erblichen Vorgänge innerhalb der einzelnen Arten bekannt ist. Wir führen in diesem Zusammenhang zunächst eine Anzahl von Unterarten bzw. Varietäten, deren erbliche Konstanz erwiesen ist, im Zusammenhang auf.

V. Tournefortii: var. *Kochiana* GODR. Fl. Lorraine II 164, als erblich konstant durch DRABBLE und LITTLE (1931, S. 204) erwiesen.

Subsp. *Corrensiana* und *Aschersoniana* (LEHMANN 1909, S. 249; DRABBLE and LITTLE 1931); *tubingensis* [LEHMANN 1919, S. (41)].

V. agrestis: var. *typica* und var. *glabrescens* (WIESBAUR 1892): Feststellung ihrer Konstanz durch LEHMANN (1917, S. 465). Desgleichen var. *rosea*.

V. polita: subsp. *Thellungiana* und *Ludwigiana* (LEHMANN 1909, S. 249), durch Generationen konstant.

Sicher ist die Zahl der erblichen Formen innerhalb der verschiedenen Arten, besonders der *V. Tournefortii*, auch wenn wir von den alsbald zu besprechenden Blütenvariationen absehen, noch erheblich größer. Sorgfältiges Herbarstudium legt die Überzeugung nahe, daß manche Form nicht rein modifikativer Natur ist.

Entsprechend wie in manchen anderen Fällen (vgl. z.B. DOBZHANSKY 1939, S. 138) wäre es ferner durchaus denkbar, daß auch bei den *Agrestis*-Arten genomatisch verschieden veranlagte Rassen bestehen. Denken wir nur z.B. daran, daß jüngst von MATTICK (vgl. TISCHLER 1950, S. 138) aus dem weltweiten Verbreitungsgebiet der *V. serpyllifolia* neben der vorher allein bekannten haploiden Zahl $n = 7$ nun auch die Zahl $n = 14$ festgestellt wurde. Nach freundlicher, brieflicher Mitteilung der Autorin (22. Januar 1953) stammen die von ihr untersuchten Rassen mit der Zahl $n = 7$ aus dem Gschnitztal in Tirol, während die Form mit $n = 14$ von Professor ROTHMALER im Hafnergraben im Wienerwald gesammelt wurde. Ob sich in diesem Falle die genomatische Verschiedenheit morphologisch ausspricht, konnte nicht ermittelt werden.

Für die Arten der Gruppe *Agrestis* wurde bislang noch von keinen chromosomalen Verschiedenheiten innerhalb der Artgrenzen berichtet. Wenn YAMASHITA (vgl. TISCHLER 1950, S. 138) eine *V. agrestis* L. mit $n = 7$ angibt, so beruht das

zweifellos darauf, daß in Japan *agrestis* L. immer für *V. polita* Fr. angegeben wird und die echte *agrestis* L. in Japan nicht vorkommt (vgl. LEHMANN 1907, S. 557).

II. Die Kreuzungen.

Etwas weiter haben auf diesem Gebiete zwischen einigen der aufgefundenen Unterarten von *V. Tournefortii* angestellte Kreuzungen geführt (LEHMANN 1915). Die F1 der Kreuzung *Corrensiana* \times *Aschersoniana* ließ erkennen, daß Blattgröße und Form, desgleichen Blütengröße, Form und Farbe etwa intermediär waren. In F2 kam es zur Spaltung, welche besonders für Blütenfarbe, Form und Größe verfolgt wurde. Einfache Spaltungsverhältnisse konnten nicht festgestellt werden (LEHMANN 1915, S. 155 und Tafel). Es trat vielmehr eine relativ große Zahl nach Farbe und Form, wenn auch wenig verschiedener Typen auf. Dieses Verhalten bei einander so nahestehenden, zur Kreuzung verwandten Formen war auffallend. Noch überraschender aber war, daß ein Teil der so herausgespaltenen Typen sich dann weiterhin in F3 und F4 mehr oder weniger konstant erhielt. Auf diese Weise entstand z. B. *V. turingensis* [LEHMANN 1919, S. (41)], die dann auch zu weiteren Kreuzungen, besonders in Verbindung mit Pentasepalieuntersuchungen, herangezogen wurde (vgl. S. 29).

Nun waren diese Kreuzungen aber lange vor Ermittlung der Tetraploidie der *V. Tournefortii* wie auch vor Klarstellung der verwickelten Spaltungsverhältnisse, welche bei Tetraploiden die Regel sind, durchgeführt worden. So wurde den Ergebnissen der Kreuzungen der *Tournefortii*-Unterarten eine rein hypothetische Deutung gegeben, die längst überholt ist (LEHMANN 1915, S. 159). Heute können wir nicht daran zweifeln, daß gerade die tetraploide Veranlagung der *Tournefortii* für die überraschenden Kreuzungsfolgen verantwortlich zu machen ist, besonders nachdem sie so aufschlußreich für die Klärung der Vererbung der Pentasepalie geworden ist (vgl. S. 29). Die Erfassung des Erbganges dieser, die Blumenkrone betreffenden Merkmale im einzelnen dürfte indessen bei den minutiösen, offenbar durch zahlreiche Allele bedingten Merkmalen auch heute noch auf unüberwindbare Schwierigkeiten stoßen.

Der Variantenreichtum.

Dennoch sind die erzielten Ergebnisse für unsere Gesamtproblematik nicht ohne Wichtigkeit. Die Annahme, daß bei *V. Tournefortii* im Gefolge der Polyploidie noch weitere erbliche Einheiten bestehen oder sich bilden können, gewinnt dadurch eine Stütze. In der Gattung *Veronica* ist ja auch sonst Polyploidie mit Variabilität eng verbunden:

1. Bei der tetraploiden *V. cymbalaria* der Gruppe *Megasperma* besteht ein Schwarm von Kleinarten, die von JORDAN und FOURREAU (1866/68) so klar erfaßt und in so besonders schöner Weise bildlich dargestellt wurden. Aber auch bei der ebenfalls tetraploiden *V. hederifolia* wurden allerlei Kleinarten bekannt (LEHMANN 1929).

2. Für die Gruppe *Pentasepala* sagt WATZL (1910, S. 11): „Was die Variation der vorliegenden Arten betrifft, so ist zu sagen, daß sie sich in sehr weiten Grenzen bewegt. Relativ gering ist sie noch bei *V. prostrata*. Diese Art behält ihre Merkmale trotz ihres großen Verbreitungsgebietes überall ziemlich hartnäckig bei. Viel weniger gilt das für *V. Teucrium*, und *V. austriaca* variiert in geradezu groß-

artiger Weise, daß sich 2 Exemplare dieser Art von demselben Standort oft viel weniger ähnlich sehen als etwa eine *prostrata* von Westeuropa und vom Altai.“ WATZL wußte damals noch nicht, was uns SCHEERER erschlossen hat, daß auch die Chromosomenzahl von *prostrata* mit $n = 8$ ($n = 16$) geringer ist als die von *austriaca* und *Teucrium* mit $n = 16$ bzw. $n = 32$.

3. Schließlich lassen die so häufig polyploiden Arten der Sektion *Pseudolysimachia* ebenfalls eine reiche Variabilität erkennen (HÄRLE 1932; GRAZE 1933, 1935).

So mag die Polyploidie bei der Bildung neuer Unterarten auch in unserer Gruppe eine wichtige Rolle spielen, wobei Kreuzungen von fördernder Bedeutung sind (vgl. dazu MELCHERS 1946).

H. Die Erwanderung der Vegetationsgebiete der Arten der *Veronica*-Gruppe *Agrestis* und die Polyploidie.

Daß *V. polita* irgendwann aus ihrer östlichen Heimat nach dem Westen vordringen sein muß, unterliegt keinem Zweifel. Über den Zeitpunkt und die Schnelligkeit des Vordringens wissen wir nichts Bestimmtes (vgl. LEHMANN 1940, S. 510). Jedenfalls gehört sie zu den diploiden Unkräutern — nach HEISER und WHITAKER (1948) sind es z. B. in Kalifornien 51 % —, die sich über weite Gebiete verbreiten, ohne je über den diploiden Zustand hinausgegangen zu sein (vgl. dazu auch GUSTAFSSON 1948, S. 21). Allerdings hat sie sich, wohin sie auch gekommen ist (vgl. S. 28) bislang nicht aus ihren ursprünglichen, von der Heimat gewohnten, klimatischen wie edaphischen Lebensbedingungen herausbegeben. Die Möglichkeit ihrer weiten Verbreitung, zugleich aber ihrer ökologischen Gebundenheit, beruht auf genischen Grundlagen. Unter ähnlichen Bedingungen hat z. B. auch die diploide *V. acinifolia* weite, wenn auch durchaus nicht so umfassende Gebiete eingenommen, während die diploide *V. arvensis* sich sogar von den Umweltbedingungen sehr unabhängig gemacht hat und überaus lebensfähig geworden ist.

Den zweiten diploiden Vertreter unserer Gruppe, *V. filiformis*, konnten wir auf seiner um 1900 einsetzenden Wanderung aus den Kaukasusländern nach Westen fast in allen Einzelheiten verfolgen (LEHMANN 1942). Auch diese Art hat sich bei ihrem Vordringen eng an die von der Heimat gewohnten Lebensbedingungen gehalten (vgl. S. 22).

Die tetraploiden Arten *V. agrestis* und *opaca* konnten, was die Weite ihres Verbreitungsgebietes anbelangt, keinen bemerkenswerten Gebrauch von der Genomverdoppelung machen. Sie blieben, ähnlich den diploiden Arten, an bestimmte, wenn auch vergleichsweise extreme ökologische Bedingungen gebunden (vgl. S. 23). Obwohl sie doch zweifellos schon seit Jahrhunderten in Europa leben (vgl. LEHMANN 1940, S. 511) konnten sie diesen Rahmen nicht sprengen.

Durchaus anders als die vorherbesprochenen Arten hat sich *V. Tournefortii* verhalten. Da sie, wie wir sahen, imstande war, nahezu alle ihr begegnenden klimatischen und edaphischen Bedingungen zu meistern, da sie auch über den nötigen Variantenreichtum verfügen dürfte, der sie dazu befähigt, vielerlei Standorte zu besiedeln, so war es ihr möglich, sich seit 1800 weithin über Europa, ja über die Äcker der gemäßigten Zone der ganzen Erde in einem gewaltigen Siegeszuge zu verbreiten. Und überall, wo sie nur auf einigermaßen geeignete

Standorte stieß, hat sie sich in solchen Mengen festgesetzt, daß man mancherorts erhebliche Anstrengungen machte, sich ihrer zu erwehren. Zweifellos war hier die ungehemmte Polyploidie das Kraftzentrum bzw. die „innere Disposition“, welche die Pflanze vorwärts trieb und ihr das Durchsetzen anderen Pflanzen gegenüber ermöglichte. Nach TISCHLER (1942, S. 740) gehört sie zu den Paradebeispielen tetraploider Unkräuter, die sich noch in den letzten Jahrzehnten mit außerordentlicher Geschwindigkeit verbreitet haben. Allerdings darf man diese polyploide Veranlagung nicht allein für all ihre Erfolge direkt verantwortlich machen (HEISER und WHITAKER 1948). Ihr war ja von *V. polita* ein Erbe mit gegeben, welches die weite Verbreitungsmöglichkeit begünstigte. Indessen hat sie die *V. polita* allgemein an Verbreitung übertroffen und nicht selten deren Standorte usurpiert. So gibt z.B. BUCHLI (1936, S. 63) für die Nordostschweiz als Frequenz von *V. Tournefortii* 148 — Frequenzklasse 3 (40—60%) gegen 12 — Frequenzklasse 1 (0—20%) für *V. polita* an.

Wie fest verankert die ökologischen Ansprüche der Arten der Gruppe auch nach weiten Wanderungen sind, illustriert vorzüglich ihre derzeitige Verbreitung in Nordamerika, wohin sie ja von Europa verschleppt wurden (vgl. PENNELL 1935, S. 348 und LEHMANN 1940, S. 511). Die Arten haben dort klimatisch wie edaphisch ganz entsprechende Räume besiedelt wie in Eurasien. Die große Durchschlagskraft von *V. Tournefortii* auch in diesen Gebieten aber wird besonders eindringlich dadurch erwiesen, daß von MUENSCHER (1948) unter den gemeinen Unkräutern von „lawns and fields“ und „fields and gardens“ nur sie genannt wird, nicht aber die anderen *Agrestis*-Arten. Über sonstige Einzelheiten des Vordringens der *V. Tournefortii* vgl. auch LEHMANN 1906, 1908 und 1942.

Wollen wir aus den bisherigen Feststellungen noch einen allgemeineren, über unsere Darlegungen hinausgehenden Schluß ableiten, so können wir ihn am besten in die Worte bester Kenner von Polyploidie und Unkrautfragen kleiden. GUSTAFSSON (1946) sagt: „That the significance of polyploidy cannot properly assessed, unless each genus within each flora is examined separately“ und HEISER und WHITAKER (1948) führen aus: „Generalisations involving polyploidy are probably meaningless. Its significance can only evaluated by the examination of individual families or even genera, rather than floras as a whole“.

I. Die Mitbeteiligung der wechselnden genomatischen Valenz an der Prägung vier- und fünfgliedriger Blüten in der Gattung *Veronica*, im besonderen der Gruppe *Agrestis*.

Die enge Verbindung unserer Gruppe mit der Gesamtgattung *Veronica* offenbart sich am deutlichsten in der Blüte. Es besteht kein Zweifel, daß der heute allgemein anerkannte Grundplan der *Veronica*-Blüte: K 4 C 4 A 2 G 2 durch Reduktion aus einem isomeren fünfgliedrigen Grundplan K 5 C 5 A 5 G 5 hervorgegangen ist. Ja, wir kennen noch ursprüngliche *Veronica*-Arten (z.B. in der Gruppe *glandulosa*), welche in Kelch und Krone nahezu rein fünfgliedrig sind (R. E. FRIES 1924). Die Reduktion von diesem ursprünglichen Grundplan zum abgeleiteten ist in zahlreichen und mannigfaltigen Einzelschritten vonstatten gegangen, wofür wir besonders in Kelch- und Blumenblattkreis reichliche Belege kennen [JUEL 1891, FISCHER 1920, LEHMANN 1919, S. (33); 1940, S. 463; SAUNDERS 1934, S. 453].

Es ist nun nicht zu bezweifeln, daß dieses Entwicklungsgeschehen der Reduktion auf sehr verwickelten, entwicklungsmechanischen und genetischen Grundlagen abgelaufen ist, bzw. abläuft. Für die ersteren hat FISCHER (1920) gezeigt, daß besonders die in den einzelnen Verwandtschaftskreisen verschieden starke Verlagerung der Entfaltung des Blütenprimordiums von der hinteren nach der vorderen Seite eine ausschlaggebende Rolle spielt.

Die genetische Klärung der Vorgänge des Überganges von der ursprünglichen Fünfgliedrigkeit in die Viergliedrigkeit bei den phylogenetisch ältesten, hauptsächlich der Sektion *Veronicastrum* angehörigen Gruppe der Gattung fehlt noch ganz. Auch die chromosomalen Feststellungen sind dort noch sehr spärlich. In der Mehrzahl scheint dort allerdings die einfache Grundzahl $n = 8$ zu herrschen, so daß rein genetische Vorgänge den Ablauf der Reduktion bestimmen dürften. Gerade in der Gruppe *Agrestis* aber, die auf einer Strecke der Reduktionsreihe liegt, wo die hier die Regel bildende, abgeleitete Vierzahl der Blütenglieder mit der ursprünglichen Fünfzahl in gewissem Widerstreit steht, konnte ein Einblick in die genetische Grundlage dieser Vorgänge, die wieder aufs engste mit der Polyploidie verknüpft sind, gewonnen werden.

Hier konnte durch Kreuzung hochprozentig tetrasepaler und hochprozentig pentasepaler Rassen von *V. Tournefortii* (LEHMANN 1915, 1921, BEATUS 1936) die Annahme begründet werden, daß eine Anzahl in verschiedenen Dominanzverhältnissen zueinander stehender multipler Allele, die sich nach Art tetraploider Formen vererben, die Ausprägung tetrasepaler bzw. pentasepaler Kelche bestimmen. Infolge Genomverdoppelung zustande kommende Quantitätserhöhung solcher Allele begünstigt dann eine Verlegung der Zuwachsstärke der Blütenprimordien von der Hinterseite derselben nach der Vorderseite oder umgekehrt, was die Bildung fünf- oder vierblättriger Kelche nach sich zieht. Da aber bei diesen Rassen von *V. Tournefortii* hinteres und seitliche Kelchblätter etwa gleichzeitig angelegt werden, so wird der Übergang zwischen Fünf- und Viergliedrigkeit besonders leicht realisiert. Es entsteht der labile Zustand, der sich in den Zwischenrassen manifestiert.

Für unsere Annahme der Mitbeteiligung der Polyploidie am Zustandekommen von Rassen verschiedenen Pentasepaliegehaltes sprechen aber auch wieder Befunde in der Gruppe *Pentasepala*. Für *V. prostrata*, die wir schon als Art mit niedrigster Genomzahl in dieser Gruppe kennengelernt haben, konnte — entgegen der sonstigen Regel dieses Verwandtschaftskreises — auch das Auftreten niedrigprozentiger pentasepaler bis rein tetrasepaler Rassen ermittelt werden (JUEL 1891, S. 34, Fig. 2, Tafel I). LEHMANN [1919, S. (31)] aber hat eine zu 50% tetrasepale Rasse dieser Art erzogen.

Die polyploidiebezogenen Verhältnisse des Überganges von der Vier- zur Fünfgliedrigkeit von Kelch- und Blumenblattkreis, wie wir ihn in der *Veronica*-Gruppe *Agrestis* verfolgen konnten, liefert jedenfalls den ersten Schritt zum genetischen Verständnis dieses in der Gesamtgattung *Veronica* entwicklungsgeschichtlich so wichtigen Vorganges.

Der bei diesen Formen ebenfalls häufig auftretende Wechsel von Fünf- und Viergliedrigkeit in der Krone (BATESON 1892, 1898, LEHMANN 1909, 1915) konnte bislang genetisch zahlenmäßig noch nicht erfaßt werden.

Mit der gegebenen genomatischen Erklärung des Wechsels zwischen Pentasepalie und Tetrasepalie bei *V. Tournefortii* würde dann übereinstimmen, daß auch bei den tetraploiden Arten *agrestis* und *opaca* reiche fünfgliedrige Rassen (bei letzterer im Gynaezeum) festgestellt werden konnten (LEHMANN 1909, S. 166), während bei *polita* bisher nur eine arme Rasse mit 4% fünfgliedrigen Kelchen gefunden wurde. Der letztere Befund wird allerdings noch weiter zu überprüfen sein, da teratologisch arbeitende Forscher (auch PENZIG) *V. polita* bis in die neuere Zeit vielfach unter dem Namen *V. agrestis* subsumierten.

Ferner muß daran erinnert werden, daß das für die Viergliedrigkeit der Blüte maßgebende Gleichgewicht auch in einem der Gruppe *Agrestis* nahestehenden Verwandtschaftskreis auf diploider Basis gelegentlich sehr weitgehend erschüttert werden kann. Das zeigt z.B. eine Rasse von *V. syriaca*, in deren für gewöhnlich vierzähligen Blüten ein ganzes „Feuerwerk“ verschiedener Zahlenvarianten in Kelch- und Blumenblattkreis bis zu 90% festgestellt werden konnte (LEHMANN 1917, S. 614).

Zusammenfassung.

Die *Veronica*-Gruppe *Agrestis* umfaßt fünf nächstverwandte Arten, und zwar die diploiden *V. polita* und *filiformis* und die autotetraploiden *V. opaca*, *agrestis* und *Tournefortii* (= *persica*).

Kreuzungen zwischen den Arten führten zu keinen positiven Erfolgen. Nahezu normal erscheinende Kapseln und Samen konnten in größerer Zahl nur in den Kreuzungen *opaca* × *Tournefortii*, in geringerem Umfange in den von *opaca* × *polita* erhalten werden. Aber auch die hier erzielten Samen waren nicht keimfähig, so daß also keine Bastarde erzogen werden konnten. Zwischen diesen nächstverwandten Arten sind also starke Kreuzungsschranken aufgerichtet, die nur in den genannten Verbindungen in etwas durchbrochen werden konnten.

Durch vergleichend messende Betrachtung der Arten konnte gezeigt werden, daß quantitativ differierende Merkmale derselben teils durch ihre genomatische Valenz, teils durch faktorielle Grundlagen bedingt sind. Es ergab sich im allgemeinen die vornehmlich genomatisch bedingte Reihe der Werte: *polita* < *agrestis* < *opaca* < *Tournefortii*. Besonders auffallend war, daß die diploide *V. polita* mit Ausnahme von Samenzahl und Griffellänge stets am Anfang der Reihe, die tetraploide *Tournefortii* mit Ausnahme der Samenzahl an deren Ende standen. *V. opaca* zeigte sich *Tournefortii* zumeist genähert oder gar mit ihr in den Werten übereinstimmend. Es ist anzunehmen, daß die Genome beider Arten in gewissen Faktoren einander näher stehen als *V. agrestis*. Dafür spricht zudem der stärkere Kreuzungserfolg beider Arten wie die in beiden Fällen vergleichsweise hohe Multivalentenzahl. *V. filiformis* fällt aus der Reihe der Arten zumeist heraus. Die Art erweist sich den übrigen fernerstehend.

Es konnte festgestellt werden, daß die Petalengröße der 4 Arten: *V. polita*, *agrestis*, *opaca* und *Tournefortii* durch die genomatisch bedingte Zellgröße wie die offensichtlich idiosyncratisch gesondert gegründete Anzahl der Epidermiszellen bestimmt wird. Die Epidermen der Petalen der diploiden *V. polita* sind aus einer vergleichsweise großen Anzahl kleinerer, die der etwa gleichgroßen Petalen der tetraploiden *V. agrestis* und *opaca* durch eine geringere Anzahl größerer Zellen aufgebaut. Die großen Blüten von *V. Tournefortii* haben Epidermen mit zahl-

reichen großen Zellen. Die gesondert vererbenden Gene für Zellenzahl dürften bei *V. opaca* und *agrestis* der vergrößernden Tendenz der gesteigerten genomatischen Valenz entgegenwirken, während sich diese bei *V. Tournefortii* frei entfalten kann oder durch gleichsinnig wirkende Gene verstärkt wird.

Es ist also gelungen, die Grundlagen der Größendifferenzen der Petalen der 4 Arten durch vergleichende Messung und Zählung der Zellen ihrer Epidermen zu analysieren. Wir werden mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen können, daß auch andere Merkmale der tetraploiden *Agrestes* durch ein ähnliches System teils gleich- teils gegenseitig wirkender genomatischer und genischer Grundlagen bestimmt werden, wie wir es schon für Samengröße und Zahl wie Griffellänge darzulegen vermochten.

Es war beabsichtigt, die Untersuchungen fortzusetzen. Einmal sollten weitere, breiter fundierte Zahlengrundlagen für das verschiedene Verhalten der Petalenepidermen der *Agrestes* beigebracht werden. Zum anderen waren entsprechende Messungen und Zählungen an den Petalen anderer, in ihrer genomatischen Valenz verschiedener Arten der Gattung *Veronica*, wie wir solche in Beispielen aufführten, geplant. Vielleicht wären hier die Vergleichsangaben durch Kreuzungen zu überprüfen. Die Untersuchungen mußten infolge der Zeitumstände abgebrochen werden.

Die sämtlichen Arten der Gruppe *Agrestis* unterscheiden sich in ihren ökologischen Ansprüchen erheblich. Das gilt sowohl für die diploiden Arten *V. polita* und *filiiformis*, wie für die drei tetraploiden Arten. Wir haben eine Übersicht über diese Verschiedenheiten gegeben.

Sowohl *V. polita* wie *V. filiiformis* haben trotz Diploidie weite Verbreitung erlangt. Sie haben aber die ihnen gesteckten, ökologisch bedingten Grenzen auch in den neubesiedelten Gebieten nicht überschreiten können. Die tetraploiden Arten *V. agrestis* und *opaca* haben demgegenüber trotz Tetraploidie nur eine beschränkte Verbreitung gewonnen, wobei sie sich an einen relativ eng gesteckten, allerdings extremen ökologischen Rahmen gehalten haben. Im Gegensatz zu diesen Arten hat die tetraploide *V. Tournefortii* sowohl in edaphischer wie klimatischer Hinsicht die allerverschiedensten ökologischen Bedingungen gemeistert und sich überall, wohin sie gekommen ist, sieghaft weiter Länder bemächtigt, so daß sie innerhalb anderthalb Jahrhunderten zu einem der gewöhnlichsten Weltunkräuter geworden ist. Wir können nicht daran zweifeln, daß die ihr eigene besondere tetraploide Struktur dafür verantwortlich ist.

Unsere vergleichenden Messungen erlauben die Annahme zu begründen, daß *V. polita* die Ausgangsform der drei autotetraploiden Arten ist. Sicher sind dabei neben der Genomverdoppelung Veränderungen des Faktorenbestandes eingetreten, welche die anatomischen und ökologischen Verschiedenheiten der 3 Tetraploiden bestimmen. Am direktesten scheint *V. Tournefortii* durch Tetraploidisierung aus *V. polita* hervorgegangen zu sein. Die Grundlage für die weltweite Verbreitung der *V. Tournefortii* wird so aus der Veranlagung der *V. polita*, umfangreiche Gebiete zu erwandern, wie aus der Verdoppelung ihrer Genome verständlich.

Innerhalb der Arten treten erbliche Varianten auf, welche, durch die Tetraploidie bedingt, anscheinend bei *V. Tournefortii* am häufigsten sind. Durch

Kreuzung solcher Varianten können neue erbliche Formen erzielt werden. Das Kreuzungsgeschehen wird durch die tetraploide Veranlagung bestimmt.

Es wird auf die früher in Verbindung mit der Polyploidie erfaßten Übergänge von Tetrasepalie zu Pentasepalie und die dadurch verständlichen Zusammenhänge mit den pentasepalen Grundformen der Gattung hingewiesen.

So hat uns die genomatische Betrachtung der Arten der *Veronica*-Gruppe *Agrestis* mancherlei Fortschritte zum Verständnis ihrer Entwicklung gebracht und Wege für die weitere Bearbeitung der ganzen Gattung *Veronica* gezeigt. Sicher müssen noch zahlreiche Lücken unserer karyologischen Kenntnisse in der Gattung geschlossen werden. — Die neuerdings aufgenommene erfolgreiche Arbeit auf diesem Gebiet seitens der Neuchâtelers Schule unter Führung von FAVARGER (vgl. BRANDT) verspricht hier weitere besonders bemerkenswerte Ergebnisse. Ferner sollte das von uns hier begonnene, quantitativ anatomische Studium in Beziehung zur genomatischen Grundlage weiter fortgesetzt werden.

Literatur.

- BATESON, W., and A. BATESON: On variations in the floral symmetry of certain plants, having irregular corollas. Linn. J. of Bot. **28**, 396 (1892). — BATESON, W., and D. F. PERTZ: Notes on the inheritance of variation in the corolla of *Veronica Buxbaumii*. Proc. Cambridge Philos. Soc. **10**, 78 (1898). — BEATUS, R.: Der Erbgang der Pentasepalie bei den Zwischenrassen von *Veronica Tournefortii*. Jb. wiss. Bot. **79**, 255 (1934). — Die *Veronica*-Gruppe *Agrestis* der Sektion *Alsinebe* GRISEB., ein Beispiel zum Problem der Artbildung. I. Die Zytologie der Gruppe *Agrestis*. Z. Vererbungslehre **71**, 353 (1936). — BÖCHER, J. W., u. K. LARSEN: Chromosome numbers of some arctic and boreal flowering plants. Meddel. om Grönland **147**, Nr. 6 (1950). — BORNMÜLLER, J., et E. GAUBA: Florae Keredjensis Fundamenta. (FEDDE u. SCHWARTZ). Repert. Europ. et Mediterr. **6**, 719 (1942). — BRANDT, J.-P.: Contribution à la cytologie du genre *Veronica*. Bull. Soc. Neuchat. Sci. Natur **75**, 180 (1952). — Nouvelle contribution à la cytologie du genre *Veronica*. Bull. Soc. Neuchat. Sci. Natur. **76**, 111 (1953). — BRENCHEY: The Weeds of arable Land. Ann. of Bot. **1914**. — BUCHLI, M.: Ökologie der Ackerunkräuter der NO-Schweiz. Beiträge zur geobotanischen Landesaufnahme der Schweiz, H. 18, S. 1—354. 1936. — CAIN, S. A.: Foundations of plant geography. New York: Harper & Brothers 1944. — CLARK, G. H., and J. FLETCHER: Farm weeds of Canada, 2. Aufl. Ottawa 1909. — CLAUSEN, J.: Stages in the evolution of plant species. Ithaca, N. Y.: Cornell Univ. Press 1951. — CLAUSEN, J., D. D. KECK and W. M. HIESEY: Report on experimental taxonomy. Year Book No 31, 32, 35. Carnegie Institution of Washington. — The concept of species based on experiment. Amer. J. Bot. **26**, 103 (1939). — DOBZHANSKY, Th.: Die genetischen Grundlagen der Artbildung. Deutsch von W. LERCHE. Jena 1939. — DRABBLE, E., and J. E. LITTLE: The British *Veronicas* of the *Agrestis* group. J. of Bot. **69**, 180, 201 (1931). — EICHINGER, A.: Die Unkrautpflanzen des kalkarmen Ackerbodens. Berlin 1927. — Die Unkrautpflanzen des kalkgesättigten Bodens. Berlin 1930. — ELLENBERG, H.: Ackerunkraut-Gemeinschaften als Zeiger für Klima und Boden. Ludwigsburg 1950. — FERDINANDSEN, C.: Undersøgelser over danske Ukrudsformationer paa Mineraljorder. Tidsskr. Planteavl **25**, 629 (1918). — FISCHER, J.: Zur Entwicklungsgeschichte und Morphologie der *Veronica*-Blüte. Z. Bot. **12**, 113 (1920). — FRESenius, G.: Über einige *Veronica*-Arten. Flora (Jena) **34**, 657 (1851). — FRIES, E. M.: Novitiae florae suecicae **4**, 63 (1819); **1828**, 1. — FRIES, R. E.: Zur Kenntnis der *Scrophulariaceen* des tropischen Ost-Afrikas. Acta horti Bergiani **8**, Nr. 4 (1924). — GRAZE, H.: Die chromosomalen Verhältnisse in der Sektion *Pseudolysimachia* Koch der Gattung *Veronica*. Jb. wiss. Bot. **77**, 507 (1933). — Weitere Chromosomenuntersuchungen bei *Veronica*-Arten der Sektion *Pseudolysimachia* Koch. Jb. wiss. Bot. **81**, 609 (1935). — GUSTAFSSON, Å.: The plant species in relation to polyploidy and apomixis. Hereditas (Lund) **32**, 444 (1946). — Polyploidy, life-form and vegetative reproduction. Hereditas (Lund) **34**, 1 (1948). — Apomixis in higher plants. Lunds Univ. Årskr., N. F., Avd. 2 **42**, Nr. 3 (1946); **43**, Nr. 2 (1947); **44**, Nr. 2 (1948). — HÄRLE, A.: Die Arten und Formen der *Veronica*-Sektion *Pseudolysimachia* Koch, auf Grund

systematischer und experimenteller Untersuchungen. Bibl. bot. **1932**, H. 104. — HAGERUP, O.: Über Polyploidie in Beziehung zu Klima, Ökologie und Phylogenie. Hereditas (Lund) **16**, 19 (1932). — Studies on the significance of Polyploidy. III. Deschampsia and Aira. Hereditas (Lund) **25**, 185 (1939). — HAUF: Pflanzengesellschaften des Ackerbodens. Pflanzenleben **1937**, 13. — HEISER, CH. B., and THOMAS W. WHITAKER: Chromosome number, polyploidy and growth habit in California weeds. Amer. J. Bot. **35**, No 3 (1948). — HEITZ, E.: Der Nachweis der Chromosomen. Z. Bot. **18**, 625 (1926). — HESSE, R.: Untersuchungen aneuploider und tetraploider *Petunia*. Z. Vererbungslehre **75**, 1 (1938). — HOFELICH, A.: Die Sektion *Alsinebe* GRISEBACH der Gattung *Veronica* in ihren chromosomalen Grundlagen. Jb. wiss. Bot. **81**, 541 (1935). — HUBER, A.: Beiträge zur Klärung der verwandtschaftlichen Beziehungen in der Gattung *Veronica*. I. Die Kernuntersuchungen in der Gattung *Veronica*. Jb. wiss. Bot. **66**, 359 (1927). — HULTÉN, E.: Flora of Alaska and Yukon. Lunds Univ. Årskr., N. F., Avd. 2 **45**, Nr 1 (1949). — JORDAN et FOURREAU: Breviarium plantarum novarum. 1866/68. — JUEL, H. O.: Studier öfver *Veronica*-Blomman. Acta horti Bergiani **1**, 5 (1891). — KORSMO, E.: Unkräuter im Ackerbau der Neuzeit. 1930. — LEHMANN, E.: Wanderung und Verbreitung von *Veronica Tournefortii* Gm. Abh. Naturwiss. Ges. Isis Dresden **1906**, 91. — *Veronica agrestis* im Mittelmeergebiet, Ostafrika und Asien. Bull. l'herb. Boissier. II. s. 7. **546** (1907). — Vorläufige Mitteilung über Aussaatversuche mit *Veronica* der Gruppe *Agrestis*. Ber. dtsh. bot. Ges. **25**, 464 (1907). — Geschichte und Geographie der *Veronica*-Gruppe *Agrestis*. Bull. l'herb. Boissier, II. s. 8, 229, 337, 410, 644 (1908). Über Zwischenrassen in der *Veronica*-Gruppe *Agrestis*. Z. Vererbungslehre **2**, 144 (1909). — Einige Mitteilungen zur Kenntnis der Gattung *Veronica*, Österr. bot. Z. **59**, 249 (1909). — Über Merkmalseinheiten in der *Veronica*-Sektion *Alsinebe*. Z. Bot. **2**, 577 (1910). — Differentialdiagnosen der Arten der *Veronica*-Gruppe *Agrestis*. Verh. bot. Ver. Prov. Bdrbg **54**, 165 (1912). — Über Bastardierungsuntersuchungen in der *Veronica*-Gruppe *Agrestis*. Z. Vererbungslehre **13**, 88 (1915). — Vererbungsversuche mit *Veronica syriaca* ROEM. et SCHULT. Ber. dtsh. bot. Ges. **35**, 611 (1917). — Die Pentasepalie in der Gattung *Veronica* und die Vererbungsweise der pentasepalen Zwischenrassen. Ber. dtsh. bot. Ges. **36**, (28) (1919). — Über die Vererbungsweise der pentasepalen Zwischenrassen von *Veronica Tournefortii*. Z. Bot. **13**, 481 (1921). — Geschichte und Geographie der *Veronica*-Gruppe *Megasperma*. Bibl. bot. **24**, H. 99 (1930). — Polyploidie und geographische Verbreitung der Arten der Gattung *Veronica*. Jb. wiss. Bot. **89**, 461 (1940). — Die Einbürgerung von *Veronica filiformis* Sm. in Westeuropa und ein Vergleich ihres Verhaltens mit dem der *Veronica Tournefortii* Gm. Gartenbauwiss. **16**, 423 (1942). — *Veronica filiformis* Sm., eine selbststerile Pflanze. Jb. wiss. Bot. **91**, 395 (1944). — LEWIS, D.: Physiology of Incompatibility in Plants. J. Genet. **45**, 171 (1943). — Heredity (Lond.) **1**, 85 (1946). — LINKOLA, K.: Studien über den Einfluß der Kultur auf die Flora in den Gegenden nördlich vom Ladogasee. Acta Soc. Fauna et Flora fenn. **45**, Nr 1 (1916). — LÜBBEN: Die Ackerunkrautgesellschaften des Lübecker Raumes. Diss. Kiel 1950. — MELCHERS, G.: Die Ursachen für die bessere Anpassungsfähigkeit der Polyploiden. Z. Naturforsch. **1**, 160 (1946). — MUENSCHER, W. C.: Weeds. New York: Macmillan & Co. 1948. — MÜNTZING, A.: The evolutionary significance of autopolyploidy. Hereditas (Lund) **21**, 263 (1935/36). — NIELSEN, N. C.: Hvad Ukrudsplanterne fortæller om Jordens-Kalktræng. Viborg 1926. — OBERDORFER, E.: Pflanzensoziol. Exkursionsflora für Südwestdeutschland usw. 1949. — PENNELL, F. W.: The *Scrophulariaceae* of eastern temperate North America. The Acad. of Natural Sciences Philadelphia 1933, Monographs No 1. — The *Scrophulariaceae* of the Western Himalaya. The Acad. of Natural Sciences Philadelphia 1943, No 5. — RAABE, E. W.: Der Zeigerwert der Ackerunkräuter des östlichen Holsteins. Biol. Zbl. **68**, 471 (1949). — ROBBINS, W. W., M. K. BELLUE and W. S. BALL: Weeds of California. Calif. State Dept. Agric. Sacramento 1941. — RÖMPP, H.: Die Verwandtschaftsverhältnisse in der Gattung *Veronica*. Rep. spec. nov. regni vegetab., Beih. **50**, (1931). — SAUNDERS, E. P.: A study of *Veronica* from the viewpoint of certain floral characters. J. Linn. Soc. Bot. **49**, 453 (1934). — SCHEERER, H.: Experimentelle und zytologische Untersuchungen innerhalb der *Veronica*-Gruppe *Pentasepala*. Flora (Jena) **131**, 287 (1936/37). — SCHLENKER, G.: Experimentelle Untersuchungen in der Sektion *Beccabunga* GRISEB. der Gattung *Veronica*. Flora (Jena) **130**, 305 (1936). — SCHMITZ: MARGOT: Zur Charakterisierung der Arten der *Veronica*-Gruppe *Agrestis* unter besonderer Berücksichtigung des Polyploidieproblems. Diss. Tübingen 1946. Maschinenschriftl. Exemplar in der Univ.-Bibliothek, Tübingen. — SCHWANITZ, F.: Weitere Beiträge zur Sexualität polyploider Pflanzen. Züchter **20**, 336 (1950). — Chlorophyllgehalt diploider und polyploider

Pflanzen. Züchter **21**, 30 (1951). — Einige kritische Bemerkungen zur Methode der Bestimmung der Polyploidie durch Messung der Pollen- und Spaltöffnungsgröße. Züchter **22**, 273 (1952). — S. MONET, M.: Contributions à l'étude caryologique des *Veronica*. C. r. Soc. Biol. Paris **117**, 1153 (1934). — STEBBINS, G., and FR.: Cytological characters associated with the different growth habits in the dicotyledons. Amer. J. Bot. **25**, 189 (1938). — STRAUB, J.: Die Beseitigung der Selbststerilität durch Polyploidisierung. Ber. dtsh. bot. Ges. **59**, 296 (1941). — THALER, J.: Morphologisches über *Veronica filiformis* und ihre Verwandten. Phytion **3**, 216 (1951). — TISCHLER, G.: Die Bedeutung der Polyploidie für die Verbreitung der Angiospermen, erläutert an den Arten Schleswig-Holsteins, mit Ausblicken auf andere Florengebiete. Bot. Jb. **67**, 1 (1934). — Polyploidie und Artbildung. Naturwiss. **30**, 713 (1942). — Die Chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas, S. 138—140. 1950. — VOLKART, A.: Untersuchungen über den Ackerbau und die Ackerunkräuter im Gebirge. Landwirtsch. Jb. Schweiz **47**, 771 (1933). — WATZL, B.: *Veronica prostrata* L., *Teucrium* L. und *austriaca* L. usw. Abh. der k. k. zool.-bot. Ges. Wien **5**, H. 5 (1910). — WETTSTEIN, F.: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. Z. Vererbungslehre **33**, 1 (1924). — Die Erscheinung der Heteroploidie, besonders im Pflanzenreich. Erg. Biol. **2**, 311 (1927). — Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. I. Zellgrößenregulation und Fertilvermögen einer polyploiden *Bryum*-Sippe. Z. Vererbungslehre **74**, 34 (1937). — Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. II. Zur Frage der Polyploidie als Artbildungsfaktor. Ber. dtsh. bot. Ges. **58**, 374 (1940). — WETTSTEIN, F., u. J. STRAUB: Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. III. Weitere Untersuchungen an polyploiden *Bryum*-Sippen. Z. Vererbungslehre **80**, 274 (1942). — WIDDER, F.: *Veronica filiformis* SMITH, ein unerwünschter Zuwachs der Kärntner Flora. Carinthia II **136**, 94 (1947). — WIESEBAUR, J.: Verbreitung der *Veronica agrestis* in Österreich. Dtsch. bot. Mschr. **1887**, Nr 9, 138, 166. — Zur Verbreitung von *V. agrestis* in Oberösterreich. Österr. bot. Z. **1888**, 31. — Das Vorkommen des echten Ackerehrenpreises (*Veronica agrestis* L.) in Oberösterreich. Jb. des Vereins für Naturkunde in Linz **1892**. — WULFF, E.: Les Véroniques de la Crimée et du Caucase, S. 1—180. 1915. — WULFF, H. D.: Chromosomenstudien an der Schleswig-Holsteinischen Angiospermenflora. I. Ber. dtsh. bot. Ges. **55**, 262 (1937). — Karyologische Untersuchungen an der Halophytenflora Schleswig-Holsteins. Jb. wiss. Bot. **84**, 372 (1937). — YAMASHITA, K.: Agric. and Horticult. **12**, 1219 (1937). — ZÜNDORF, W.: Zytogenetisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen der *Veronica*-Gruppe *Biloba* der Sektion *Alsinebe* GRISEB. Z. Vererbungslehre **77**, 195 (1939).

Prof. Dr. ERNST LEHMANN, Tübingen, Uhlandstraße 14/I.

Dr. MARGOT SCHMITZ-LOHNER, Nagold, Calwerstraße 36.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln.

ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICH-GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN POLLENSTERILEN MUTANTEN VON *PETUNIA*.

Von

GOTTHARD WELZEL.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. August 1953.)

A. Einleitung.

Die pflanzliche Gonenbildung ist durch eine Reihe von Umweltsbedingungen beeinflussbar. Daneben spielen innere Faktoren, welche die Meiosis und die weitere Pollen- bzw. Eizellenentwicklung steuern, eine wichtige Rolle. So berichten BEADLE und MCCLINTOCK (1928), BLAKESLEE (1928), AVERY (1929), KOSTOFF (1930), PERSIDSKY und MODILEWSKI (1934), OEHLKERS (1937) und CLARK (1939) von einzelnen Genveränderungen, die Störungen im Ablauf der meiotischen Teilungen hervorrufen. Erbliche Abwandlungen der postmeiotischen Pollenentwicklung sind durch OEHLKERS (1927) an *Oenothera*, LEVAN (1935, 1942) an *Allium* und *Petunia*, CHRISTOFF (1938) an *Nicotiana*, RICK (1948) an *Lycopersicum* und HARTE und BOSSINGER (1952) an *Oenothera* bekannt.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die meiotischen und postmeiotischen Entwicklungsprozesse von spezifischen Genen gesteuert, die in den Mikro- und Makrosporenmutterzellen wirken. Von besonderem Interesse sind daneben die genetischen Faktoren, welche die ernährungsphysiologischen Vorgänge im Tapetum und im Nucellus bei der Gonenbildung leiten. Um solche Gene kennenzulernen, bedient man sich am besten pollensteriler Mutanten mit pathologischer Funktion des Tapetums. Darin besteht die Hauptaufgabe vorliegender Arbeit. Daneben werden auch die aufgefundenen chromosomalen Veränderungen hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Pollensterilität erfaßt und im Zusammenhang damit die meiotische und postmeiotische Entwicklung des Pollens und des Tapetums von *Petunia* beschrieben.

B. Material und Methode.

1. *Art und Herkunft des Versuchsmaterials.* Als Material für die Untersuchungen dienten normale Formen und Röntgenmutanten einer homozygoten Sippe von *Petunia hybrida* „(Himmelsröschen“) aus den Kulturen von J. STRAUB. Die Auslösung der Mutationen wurde 1948 im Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie in Hechingen vorgenommen. Der Pollen wurde dabei Röntgenstrahlen von 10000 r und 20000 r ausgesetzt. Die Bestrahlungsversuche mit dem Röntgenapparat Macro 100 verliefen unter folgenden konstanten Bedingungen: Röhrenbelastung 100 kV (5 mA), ungefiltert; Fokus-Objektstand 6,8 cm; 1000 r/min. Die F₁ und F₂ ergab eine große Anzahl pollensteriler Mutanten.

2. *Untersuchungsmethoden.* Die Antheren wurden zur zytologischen Untersuchung in einem Alkohol-Eisessiggemisch (3:1) fixiert, nach 24 Std etwa 10 min in Karminessigsäure gekocht und nach der üblichen Art gequetscht. Die Nuklealquetschmethode (HEITZ 1935) lieferte ebenfalls gute Präparate; die Fixierung erfolgte in „La Cour 2 BE“. Zur Untersuchung der weiteren Pollenentwicklung, der Entwicklung des Tapetums und der Makrosporengenesen dienten nach dem Mikrotomverfahren hergestellte Quer- und Längsschnitte von

Antheren und Fruchtknoten. Die Färbung erfolgte dabei mit der Nuklealreaktion nach FEULGEN (ROMEIS 1948) und mit Gentianaviolett nach CLAUSEN (OEHLKERS 1940).

Der p_H -Wert einzelner Gewebe wurde nach der kolorimetrischen Methode bestimmt. Die Farbindikatoren waren dafür aus einer Übersicht von KOLTHOFF (1932) ausgewählt und mit standardisierten Bayer-Farben angesetzt worden. Zur Kontrolle dienten Puffergemische nach McILVAINE (KOLTHOFF 1932).

Die Untersuchungen auf Stärke, Eiweiß und Fette wurden mit den üblichen mikrochemischen Nachweisen (MOLISCH 1923, ROMEIS 1948) durchgeführt.

Die statistische Auswertung der Versuche erfolgte mit Hilfe des χ^2 -Testes nach FISHER (1938) und der t - und p -Werte nach KUCKUCK und MUDRA (1950).

C. Ergebnisse der Untersuchungen an pollensterilen Mutanten von *Petunia*.

I. Die normale Pollen- und Tapetumentwicklung von *Petunia hybrida*.

Die Untersuchung pollensteriler Mutanten setzt eine genaue Kenntnis der Entwicklung des Pollens und des Tapetums voraus.

1. *Meiosis und Pollenbildung.* Die sporogenen Zellen liegen während der prämeiotischen Teilungen fest im Gewebeverband; erst durch Abrundung und Zellvergrößerung werden sie zu PMZ. Der diploide Kern der PMZ ($2n=14$) zeigt im Ruhestadium neben einem Nukleolus eine Reihe heterochromatischer Chromosomensegmente. Ihre Zahl läßt sich nicht mit der Chromosomenzahl in Übereinstimmung bringen, jedoch sind die Chromosomen von *Petunia* sehr stark heterochromatisch. Im Leptotän werden sie als lange dünne Fäden sichtbar und zu Beginn des Diplotäns sind die Chiasmen zu erkennen, mit denen die homologen Chromosomen in Verbindung stehen. Die durchschnittliche Zahl der Diplotän-Chiasmata des SAT-Bivalentes beträgt 2,76 (Tabelle 1). Als Maß für

Tabelle 1. Anzahl der Chiasmata des SAT-Bivalentes im Diplotän.

	Zahl der Chiasmen					Mittelwert
	0	1	2	3	4	
Anzahl der Pollenmutterzellen . . .	—	4	29	111	2	2,76

den Bindungsgrad in der Diakinese gilt allgemein der Bindungsausfall in $M\%$, der bei Vorhandensein der 14 möglichen Endchiasmen 0 beträgt, während er bei völliger Asynapsis 100 ausmacht. Bei unserem Material ist der Mittelwert geöffneter Bindungen 5,07% (Tabelle 2). An sehr heißen Tagen war allerdings

Tabelle 2. Endbindungen je Pollenmutterzelle in der Diakinese.

	Zahl der Bindungen														Total	Mittelwert	M %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Anzahl der Zellen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	77	24	104	13,29	5,07

ein weit höherer Bindungsausfall zu finden. Gegen Ende der Diakinese wird die Kernmembran aufgelöst und die Bivalente rücken unter starker Spiralisation zur Metaphasenplatte, aus der dann die Trennung der Gemini erfolgt. Nach kurzer Interkinese setzt die zweite Reifeteilung ein. Am Ende dieser Teilung

schließen die simultan zentripetalen Wandbildungen die Meiosis ab. Vier junge Pollenkörner liegen danach innerhalb der PMZ-Membran in einer Tetrade zusammen. Unter starkem Wachstum lösen sich bald die Pollenkörner aus dem Tetradenverband und reifen zum definitiven Pollenkorn heran. Das Pollenkorn besitzt 3 Keimporen und nimmt in einem wäßrigen Medium durch Quellung eine nahezu rundliche Form an. Das Volumen beträgt in diesem Zustand $18910 \pm 153 \mu^3$.

2. *Entwicklung und Funktion des Tapetums*. Bei der Entwicklung des Pollens spielt das Tapetum eine ernährungsphysiologisch wichtige Rolle. Nach bisherigem Wissen entsteht das Tapetum entweder gemeinsam mit dem PMZ aus dem inneren Antherengewebe oder aus der parietalen Wandschichte. Nach dem Verhalten der Tapetumzellen bei der Ernährung des Pollens spricht man von

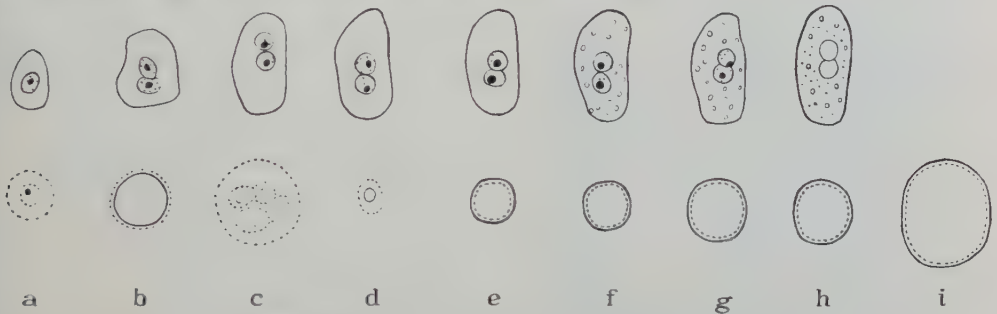


Abb. 1a—i. Die Normalentwicklung des Pollens und des Tapetums von *Petunia hybrida*.
Obere Reihe: Tapetumzellen; untere Reihe: PMZ bzw. Pollen. 340mal.

2 Haupttypen, dem *Sekretionstapetum* und dem *amoeboiden Tapetum*. Während sich bei dem amoeboiden Tapetum die Zellwände vorzeitig auflösen und die Zellinhalte zwischen die sich ausbildenden Pollenkörner dringen, werden beim Sekretionstapetum die Zellwände nicht aufgelöst und die Tapetumzellen besitzen von Anfang an die Kennzeichen eines Drüsengewebes: Mehrkernigkeit, Plasma-reichtum und Fehlen von Vakuolen. *Petunia* besitzt Sekretionstapetum. Es entsteht — wie bei den meisten Angiospermen — aus der parietalen Schicht durch perikline Wandbildungen. Man betrachtet seine weitere Entwicklung am besten in Parallele zur Pollenentwicklung (Abb. 1). In der prämeiotischen Phase liegt das Tapetum um das Archespor und läßt noch keinen Unterschied zu diesem erkennen. Erst nach Differenzierung der Archesporzellen zu PMZ zeigen die Tapetumzellen ein unterschiedliches Aussehen; sie sind länglicher als die runden PMZ (Abb. 1a). Während der meiotischen Prophasestadien Leptotän und Zygotän findet in den Tapetumzellen eine mitotische Teilung statt, wodurch diese zweikernig werden. Dabei vergrößern sich die Zellen (Abb. 1b). Ihre endgültige Größe erreichen sie jedoch erst im Tetradenstadium des Pollens (Abb. 1c). Meistens hören nach der genannten Mitose die Kernteilungen auf; manchmal können allerdings im Verlauf der weiteren Entwicklung nochmals Kernteilungen ohne nachfolgende Teilung der Zelle einsetzen, so daß in diesen Fällen Zellen mit 4 Kernen oder übergroße Zellen mit zwei großen Kernen beobachtet werden (vgl. MECHTELKE, 1952). Während der Lösung der jungen Pollenkörner aus dem Tetradenverband und der anschließenden ersten Wachstumsphase der Pollenkörner

fallen die Tapetumzellen durch ihren Plasmareichtum auf (Abb. 1d, e). Wenn die Pollenkörner ungefähr $\frac{1}{4}$ ihrer endgültigen Größe erreicht haben, werden in den Tapetumzellen tröpfchenförmige Einschlüsse sichtbar (Abb. 1f, g und Abb. 2). Sie stellen ölige Fette dar (vgl. Tabelle 3). Derartige Fetttropfen liegen in dem folgenden Entwicklungsstadium extrazellulär. In den jungen Pollenkörnern sind keine Tropfen zu sehen, doch dürfte ihre Rotfärbung mit Sudan III die Aufnahme fettiger Substanzen wahrscheinlich machen. Eine weitere Beobachtung weist ebenfalls auf die Aufnahme ölicher Fette durch den

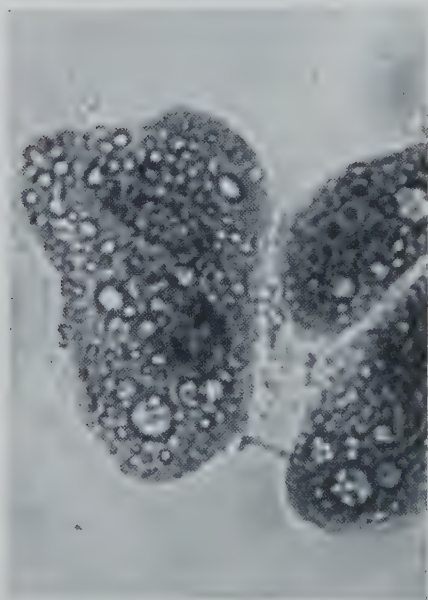


Abb. 2. Tapetumzelle der normalen Ausgangs-
sippe. Ölige Fette in Tropfenform sichtbar.
1000mal.

Pollen hin. Bei der noch zu beschreibenden Mutante *ms₂* wird nach Bildung der Öltropfen in den Tapetumzellen die Pollenentwicklung gestoppt. Alle tauben Pollenkörner dieser Mutante, die erst $\frac{1}{3}$ der endgültigen Größe reifer Pollenkörner erreicht haben, sind mit Fetttropfen voll gefropft (vgl. Abb. 9). Der junge Pollen nimmt dabei die öligen, vom Tapetum sezernierten Fette auf, doch

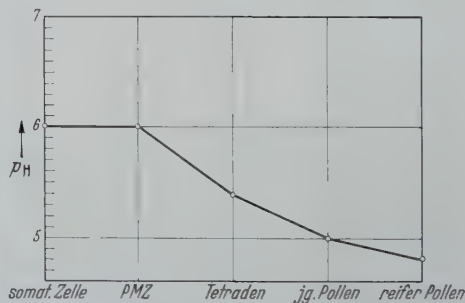


Abb. 3. Der pH-Wert während der normalen
Pollenentwicklung von *Petunia hybrida*.

findet bei dieser Mutante vermutlich kein Einbau in das Plasmagefüge mehr statt.

Die Ergebnisse der p_H -Bestimmungen während der Pollenentwicklung deuten ebenfalls darauf hin, daß die Pollenkörner pflanzliche Fette, die vom Tapetum sezerniert werden, einlagern. Mit fortschreitender Entwicklung fällt der p_H -Wert in der meiotischen Phase (vgl. Abb. 3). Dieses Absinken des p_H -Wertes kann mit dem zunehmenden Fettgehalt des Pollenkornes erklärt werden, da mit diesem auch der Gehalt an ungesättigten Fettsäuren steigt.

Tabelle 3. Mikrochemischer Nachweis zytoplasmatischer Einschlüsse der Tapetumzellen.

	Reagens					Ergebnis
	Jodkalium	MILLONsches Reagens	Sudan III	Verseifbarkeit	Löslichkeit in AE	
Nachweis	negativ, keine Stärke	negativ, kein Eiweiß	positiv, Fette oder Terpene	positiv; Fette, keine Terpene	negativ; Fette, keine Terpene	ölige Fette

Nach Abgabe der fettigen Stoffe sind die Tapetumzellen granuliert; teilweise zeigen sie noch Reste von Fetttropfen (Abb. 1h). Wenn das Pollenkorn seine endgültige Größe erreicht hat, degeneriert das Tapetum.

II. Die Pollenentwicklung bei pollensterilen Mutanten.

Die pollensterilen Mutanten werden nach dem Grad ihrer Sterilität eingeteilt.

a) Totale Pollensterilität.

1. Genetik der Mutanten.

P 44 A, eine total pollensterile Pflanze, bildete die Ausgangspflanze der genetischen Untersuchungen. Ihre Antheren sind kleiner (Abb. 4) und zeigen eine mittelbraune bis dunkelbraune Färbung, während die reifen Antheren normaler Formen gelb aussehen. Unterschiede im Wuchs (Abb. 5) und in der Blütengröße (Abb. 6) sind weitere Charakteristika dieser Mutante.

Die genetischen Untersuchungen sollten klären, ob die totale Pollensterilität und die besonderen Wachstums- und

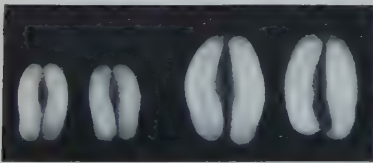


Abb. 4. Links: 2 Antheren der pollensterilen Mutante P 44 A; rechts: 2 Antheren der Normalpflanzen. 4mal.



Abb. 5. Links: Mutante P 44 A; rechts Normalpflanze. $\frac{1}{4}$ mal.

Blütenverhältnisse von P 44 A genbedingt sind und wie diese Merkmale der Mutante genetisch zusammenhängen.

Die F_1 -Generation aus P 44 A \times Normal zeigt bei völliger Dominanz der normalen Stammart ein uniformes Aussehen. Die Blüten sind ebensogroß wie beim normalen Elter und die Pollenfertilität ist normal. Die F_2 -Generation spaltet dagegen deutlich in normale und pollensterile Pflanzen im Verhältnis von 3:1 auf (vgl. Tabelle 4).

Tabelle 4. Spaltungsergebnisse der F_2 - und R-Generationen.

Gen	Generation	Anzahl der Gruppen	Anzahl der Pflanzen	Beobachtete Zahl der Mutanten	Erwartete Zahl der Mutanten	Abweichung	Verhältnis der Spaltung	P
ms_1	F_2	7	381	93	95,25	-2,25	3,021:0,979	0,053
	R	3	258	127	128,00	-1,00	1,012:0,988	0,007
ms_2	F_2	2	167	38	41,75	-3,75	3,090:0,910	0,336
	R	2	173	88	86,50	+1,50	0,983:1,017	0,026
$parv$	F_2	5	366	89	91,50	-2,50	3,028:0,983	0,027
	R	2	144	71	72,00	-1,00	1,014:0,986	0,013

Bei der Untersuchung der *pollenfertilen* Nachkommen der F_2 -Generation fanden wir Pflanzen mit kleinen Blüten, wie sie die Ausgangspflanze P 44 A besitzt. Damit trat zum erstenmal ein Merkmal der pollensterilen Pflanzen auch an pollenfertilen auf. Diesen Pflanzen mit kleinen Blüten entsprachen unter den pollensterilen Formen einige mit großen Blüten. Der Austauschwert beträgt 4,25 % (Tabelle 5). Die Spaltung Normalblütig: Kleinblütig läßt auf ein Genpaar



Abb. 6. Blüten der pollensterilen Mutante P 44 A (a) und der Ausgangssippe (b). $\frac{2}{3}$ mal.

Parv-parv schließen. Die Pollenfertilität der *parv-parv*-Austauschpflanzen beträgt 99,1 % und die Größe der betreffenden Pollenkörner ist normal. Die *pollensterilen* Nachkommen der F_2 sind ebenfalls nicht einheitlich. Es ließen sich 2 Gruppen bilden: Bei der einen wird die Pollenentwicklung erst kurz vor der Anthesis sistiert. Dieser Sterilitätstypus sei ms_2 (männlich steril) genannt. Die andere

Tabelle 5. Austauschdaten für *parv* und ms_1 in der F_2 -Generation*.

Anzahl der Phänotypen				Total	Austausch	
<i>Parv</i> MS_1	<i>Parv</i> ms_1	<i>parv</i> MS_1	<i>parv</i> ms_1		Anzahl	%
321	10	11	100	442	10,5	4,25

* Die Berechnung der Austauschwerte in der F_2 -Generation erfolgte nach KAPPERT (1953).

Gruppe bricht ihre Pollenentwicklung schon in der Diakinese der PMZ ab; sie sei mit ms_1 bezeichnet. Die Ausgangspflanze P 44A zeigt die Sterilitätserscheinungen von ms_1 . Sie muß mit *parvparv ms₁ms₁ ms₂ms₂* bezeichnet werden.

Das Gen *parv* bedingt kleine Blütengröße und Wachstumsverzögerung.

Das Gen ms_1 bedingt das Absterben der PMZ während der Diakinese. Es wirkt über eine Fehlsekretion des Tapetums (s. später).

Das Gen ms_2 ruft das Absterben der Pollenkörner kurz vor der Anthesis hervor. Ihm liegt ein Ausfall einer vermutlich letzten Sekretion ernährungsphysiologischer Art zugrunde (s. später).

Das Auftreten von ms_2ms_2 -Pflanzen beruht auf einem Koppelungsbruch zwischen ms_1 und ms_2 , die in der Ausgangspflanze P 44A eng miteinander gekoppelt sind. Tabelle 6 gibt die Daten für den Austausch an. $ms_1ms_1MS_2MS_2$ -, $ms_1ms_1MS_2ms_2$ - und $ms_1ms_1ms_2ms_2$ -Pflanzen tragen die Phäne von ms_1 , da ms_1 vor ms_2 die Degeneration der PMZ in der Diakinese bewirkt und das Gen ms_2 nicht mehr zur Wirkung kommen läßt. Daher kann nur der Wert des asymmetrischen crossing over angegeben werden.

Tabelle 6. Austauschdaten für ms_1 und ms_2 in der F_2 -Generation.

Anzahl der Phänotypen					Austausch	
MS_1MS_2	MS_1ms_2	ms_1MS_2	ms_1ms_2	Total	Anzahl	%
174	12	42*		228	12	8,63

Die Spaltungsergebnisse der F_2 und der Rückkreuzungsgenerationen sind in Tabelle 4 für alle 3 Gene zusammengestellt. Der Austausch zwischen den mutierten Genen und ihren normalen Allelen läßt eine Aussage über die Lage dieser 3 Gene in P 44A zu. Sie liegen auf einem Chromosom in der Reihenfolge *parv-ms₁-ms₂*. Der Abstand *parv-ms₁* beträgt 4,25, der von ms_1 - ms_2 8,63 (Tabelle 5 und 6).

Nach Tabelle 7 gibt es 3 Möglichkeiten der Entstehung von Austauschtypen. Während die erste und zweite Möglichkeit die beobachteten neuen Phänotypen

Tabelle 7. Schematische Darstellung des Austausches innerhalb der *parv ms₁ms₂*-Gruppe.

		Durch Austausch entstehende Typen		
		Genotyp	Phänotyp	beobachtet
1.		<i>parv MS₁MS₂</i> <i>Parv ms₁ms₂</i>	kleinblütig, pollenfertil normalblütig, pollensteril (ms_1)	ja ja
2.		<i>parv ms₁MS₂</i> <i>Parv MS₁ms₂</i>	kleinblütig, pollensteril (ms_1) normalblütig, pollensteril (ms_2)	ja ja
3.		<i>parv MS₁ms₂</i> <i>Parv ms₁MS₂</i>	kleinblütig, pollensteril (ms_2) normalblütig, pollensteril (ms_1)	nein, nicht unterscheidbar von <i>Parv ms₁ms₂</i>

* ms_1MS_2 und ms_1ms_2 sind phänotypisch nicht unterscheidbar, da die Pollenentwicklung schon in der Diakinese durch ms_1 unterbrochen wird.

kleinblütig und pollenfertil sowie normalblütig und pollensteril (ms_2) durch einfaches crossing over erklärt, liegt der dritten Möglichkeit doppelter Austausch zugrunde. Der zu erwartende Typ *parv.MS₁ms₂* ist jedoch nicht beobachtet worden. Innerhalb der Strecke *parv-ms₂* tritt offenbar kein doppeltes crossing over auf.

2. Entwicklungsgeschichte von Pollen und Tapetum in homozygoten ms_1 - und ms_2 -Pflanzen.

ms_1 -Mutanten. Bis zum Diplotän ist der Verlauf der Meiosis in den PMZ normal. In der frühen Diakinese treten die ersten Anzeichen einer Abnormalität in den PMZ auf. Das Plasma der PMZ beginnt zu schrumpfen (Abb. 7). Die Bivalente zeigen keine weitere Spiralisierung und Wanderung zur Metaphasenplatte und die Ausbildung einer Spindel unterbleibt. Die äußeren

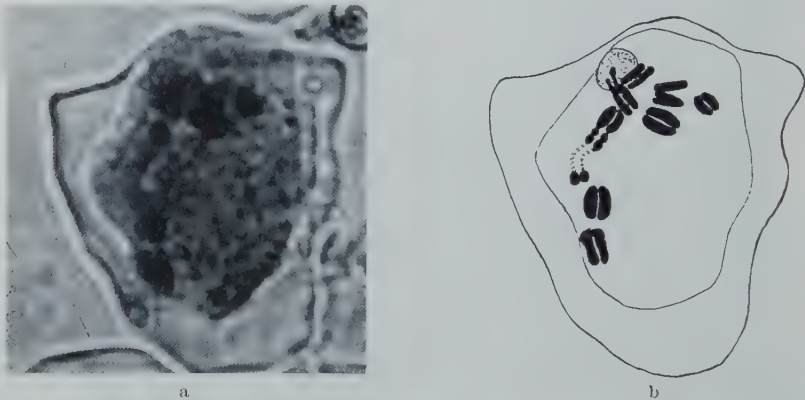


Abb. 7 a u. b. a PMZ einer ms_1 -Mutante; b Plasmaschrumpfung. 1430mal.

PMZ werden dabei eher als die im Innern des Pollensackes gelegenen von den Abnormalitäten betroffen. Die sehr plasmareichen Tapetumzellen weisen in diesem anfänglichen Degenerationsstadium der PMZ keine äußere Veränderung auf. Das Auftreten eines die PMZ umgebenden, mit Feulgen rot färbbaren Sekretes (Abb. 8a) sowie die Schrumpfung der PMZ, von außen nach innen fortschreitend, lassen auf eine *Fehlsekretion des Tapetums* schließen. Sie bringt die Pollenentwicklung in der Diakinese zum Stillstand. Hernach zerfallen auch die Tapetumzellen. Ihre Kerne werden aufgelöst und im Zellinnern treten stark färbbare Körperchen auf, während die Zellwände konkav werden. Die PMZ und die Tapetumzellen bilden schließlich in den Pollensäcken eine diffuse Masse (Abb. 8b), die zu einer einheitlich dunkel gefärbten Schicht wird, in der noch einzelnen Kerntrümmer eingebettet sind. Schließlich werden die Wände der Tapetumzellen ganz aufgelöst, und der Inhalt des Pollenfaches kollabiert zu einem dünnen Strang (Abb. 8c). Die Degeneration macht im allgemeinen bei der Faserschicht halt. Gelegentlich greift sie allerdings auch auf diese über, so daß die Pollensäcke nur noch von der Epidermis umschlossen sind. Zur Zeit der Anthesis platzen die Antheren auf, und der dunkel gefärbte kollabierte Inhalt verleiht den Antheren eine dunkelbraune Färbung.

Die Degeneration der PMZ der ms_1 -Mutante kommt also durch eine Fehlsekretion des Tapetums zustande. Wir können daher ms_1 als „Tapetungen“ bezeichnen.

ms_2 -Mutanten. Bei diesen Mutanten verlaufen die meiotischen Teilungen mit der darauffolgenden Lösung der jungen Pollenkörner aus dem Tetradenverband normal ab. Die Tapetumzellen sind während dieser Stadien ebenfalls normal. Das Tapetum sezerniert auch die fettigen Reservesubstanzen. Sie werden von den jungen Pollenkörnern noch aufgenommen, vermutlich aber nicht mehr in das

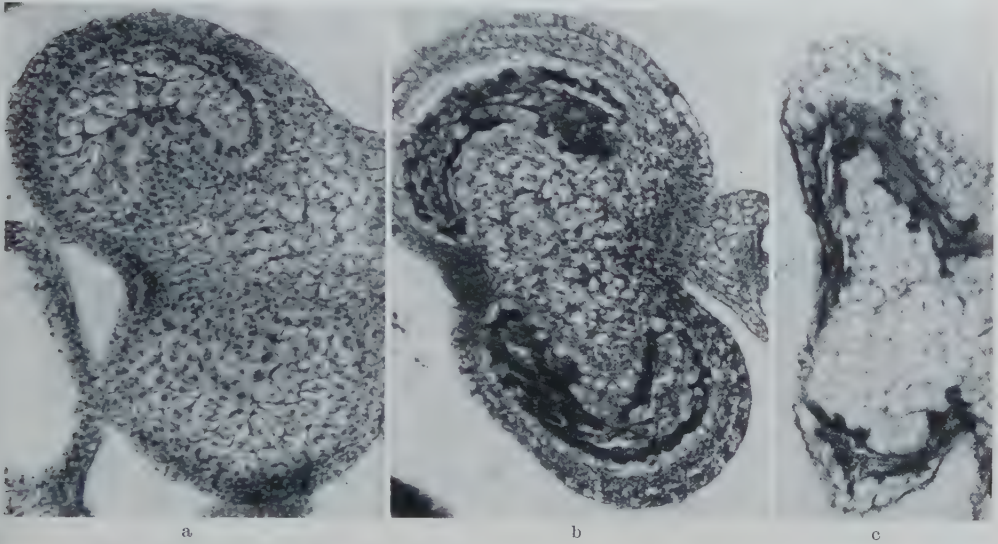


Abb. 8 a—c. Querschnitte durch einen Pollensack der Mutante ms_1 ; a PMZ mit beginnender Degeneration; zwischen den PMZ mit feulgen rotgefärbtes Sekret; b Fortgeschrittenes Degenerationsstadium; c Abschluß der Degeneration. a und b 83mal, c 55mal.

Plasmagefüge eingebaut, denn sie bleiben tropfenförmig in den Pollenkörnern sichtbar (Abb. 9). Die in diesem Zustand erreichte Pollengröße beträgt gegenüber dem Endzustand nur $\frac{1}{3}$. Die Pollenkörner wachsen dann nicht mehr weiter.

Es war zu entscheiden, ob die Wirkung des Genes ms_2 vom Pollenkorn ausgeht oder, wie die von ms_1 , über das Tapetum die Pollenentwicklung beeinträchtigt. Der späte Abbruch der Pollenentwicklung ließ zunächst vermuten, daß die Umbauprozesse der im Pollen eingelagerten Reservestoffe nicht ablaufen können, so daß die jungen Pollenkörner nicht mehr zu ihrer endgültigen Größe heranzuwachsen vermögen. Das Gen ms_2 müßte sich dann aber auch in den Heterozygoten manifestieren und in einer solchen Pflanze 50% normale und 50% taube Pollenkörner entstehen lassen. Die Fertilität der F_1 aber war normal. Auf Grund der Entwicklungsgeschichte von ms_2ms_2 -Antheren und des Verhaltens der Heterozygoten dürfte es wahrscheinlich sein, daß ms_2 über das Tapetum wirkt und ebenfalls als Tapetungen bezeichnet werden kann. In homozygoter Form ruft es durch den Ausfall einer wahrscheinlich letzten ernährenden Sekretion einen Entwicklungsstop hervor. ms_2 bewirkt sicher keine Fehlsekretion im Sinne der *Abscheidung eines die Pollenentwicklung störenden*

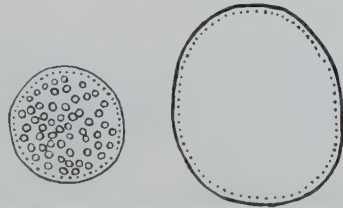


Abb. 9. Links: Pollenkorn der ms_2 -Mutante. Ölige Fette in Tropfenform sichtbar; rechts: Pollenkorn der Ausgangssippe. Beide Pollenkörner in Karminessigsäure gequollen. 672mal.

Stoffes, wie es für ms_1 typisch ist; vielmehr scheint ms_2 durch den *Ausfall eines notwendigen Ernährungsstoffes* charakterisiert zu sein.

Da sich die Mutanten ms_1 und ms_2 durch eine Störung der normalen ernährungsphysiologischen Funktion des Tapetums auszeichnen, lag der Gedanke nahe, durch Isolation der PMZ und Kultur in einem geeigneten Nährmedium den Pollen in normaler Weise zur Ausbildung und Reife zu bringen. Obwohl die Nährmedien, die als wesentliche Bestandteile die üblichen Mineralsalze, Saccharose, Vitamin B₁ und B₆, Nikotinsäure, Cystein, β -Indolyl-essigsäure sowie eine Summe organischer Substanzen in Form von Hefeextrakt und Kokosmilch enthielten, in den verschiedensten Kombinationen zusammengesetzt wurden, war eine Antherenkultur von *Petunia* nicht möglich.

3. Entwicklungsgeschichte des weiblichen Gametophyten in homozygoten ms_1 - und ms_2 -Pflanzen.

Es blieb zu untersuchen, ob auch die Entwicklung des weiblichen Gametophyten in den ms -Mutanten in Mitleidenschaft gezogen ist. Dies läßt sich durch zytologische Untersuchung der Makrosporogenese und der Bildung des reifen Embryosackes sowie durch Auszählung der Samen nach Bestäubung mit normalen Pflanzen ermitteln.

Entwicklung der Samenanlage. Die Entwicklung der Samenanlage von *Petunia hybrida* verläuft so, wie es für *P. nyctaginiflora* (LEVAN, 1937) und für andere Solanaceen (SVENSSON 1926) beschrieben ist. Normale Pflanzen tragen etwa 300—500 Samenanlagen je Fruchtknoten. In den Blüten der *parvparv*-Pflanzen werden nur 150—200 angelegt.

Die Entwicklung des weiblichen Gametophyten verläuft in jeder Hinsicht normal. Die Verhältnisse in der Meiosis sind ebenfalls normale. Die diakinetische Bindung beträgt allerdings durchschnittlich nur 11,72 (Tabelle 8) und ist damit niedriger als in den PMZ.

Tabelle 8. *Endbindungen je Embryosackmutterzelle in der Diakinese.*

	Zahl der Bindungen														Total	Mittelwert	M %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
Anzahl der Zellen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	12	53	1	—	70	11,72	16,28

Samenansatz. Die Zahl der Samen, die sich nach Bestäubung kleinblütiger pollensteriler Blüten (*parv ms₁*) mit Pollen normaler Pflanzen entwickeln, ist durchschnittlich $115,2 \pm 3,09$, während der Samenansatz normaler Pflanzen $183,7 \pm 8,58$ beträgt. Dieser Unterschied erklärt sich aber nur durch die verschiedene Blütengröße. Bei großblütigen ms_2ms_2 -Pflanzen war der Samenansatz normal.

b) Partielle Pollensterilität.

Neben homozygoten ms_1 - und ms_2 -Pflanzen, die durch eine totale Pollensterilität ausgezeichnet sind, traten in unseren Versuchen Petunien auf, die partielle Pollensterilität besitzen. Ihnen liegen Chromosomenmutationen zugrunde. Die Betrachtung der pollensterilen Chromosomenmutanten sei auf den Zusammenhang zwischen Chromosomenstruktur und Pollenfertilität beschränkt.

Für die Analyse der chromosomalen Verhältnisse der partiell-pollensterilen Mutanten sind die meiotischen Stadien Pachytän und Diakinese besonders geeignet, da in diesen Stadien die durch Umbau oder Stückverlust auftretenden Unterschiede der homologen Chromosomen durch abweichende Paarungsfiguren sichtbar werden.

Die in Tabelle 9 angegebenen Zahlen zeigen, daß 36 Pflanzen Chromosomenmutationen aufwiesen. Sechs hatten den Ausfall eines interkalaren Stückes erlitten, 25 trugen Defizienzen, 1 Pflanze enthielt eine Inversion und 4 waren

Tabelle 9. Übersicht über die in den Röntgenversuchen aufgefundenen Chromosomenmutationen.

	Gesamtzahl der lebensfähigen Kon- figurationen	Konfigurationstypen				
		reziproke Translokation	Deletion		In- version	Dupli- kation
			inter- stitiell	Defizienz		
Anzahl	36	4	6	25	1	—
Prozentsatz	100	11,1	16,8	69,4	2,7	—

mit Translokationen behaftet. Der Zusammenhang von Pollensterilität und Deletion bzw. Translokation sei im folgenden kurz betrachtet.

Sterilität durch Stückver-
lust. Bei 28 der 31 Pflanzen
(6 + 25) mit Deletionen war
die theoretisch zu erwar-
tende Semisterilität zu be-
obachten. Die Prozentwerte
an toten Pollenkörnern
schwankten zwischen 48,7
und 50,3 bei Auszählung
von 3000 Pollenkörnern
je Pflanze. Sämtliche 6
interkalaren Deletionen und
22 der übrigen Endstück-
verlustformen gehörten zu
dieser Sterilitätsgruppe. Bei
den restlichen 3 Deletions-
pflanzen war die Pollen-
sterilität wesentlich ge-
ringer; in einem Fall betrug
sie 24,2%. Das Zustande-
kommen dieses Wertes war
nicht erklärbar. Die anderen
beiden Pflanzen besaßen
trotz sichtbarer Defizienz
nur 1,7 bzw. 1,9% tote
Pollenkörner.

Sterilität durch Trans-
lokation. Drei von den 4 ge-
fundenen Röntgenmutan-

ten mit einer reziproken Translokation und entsprechender 4-Ringbildung zeigten Semisterilität, die 4. Pflanze aber eine solche von 67,8%. Diese wurde näher untersucht. Im Pachytän lassen sich ein langer und ein kurzer Schenkel der Kreuzfigur erkennen. Durch crossing over jedoch kommen Komplikationen zustande. Während nämlich nach einem crossing over innerhalb des langen Schenkels eine normale Trennung und Verteilung der homologen Partner erfolgt, verkleben bei einem crossing over innerhalb des kurzen Schenkels manchmal die gepaarten Segmente. Die Verklebung verursacht Störungen der Terminalisierung der Chiasmata und dadurch eine falsche Chromosomenverteilung. In

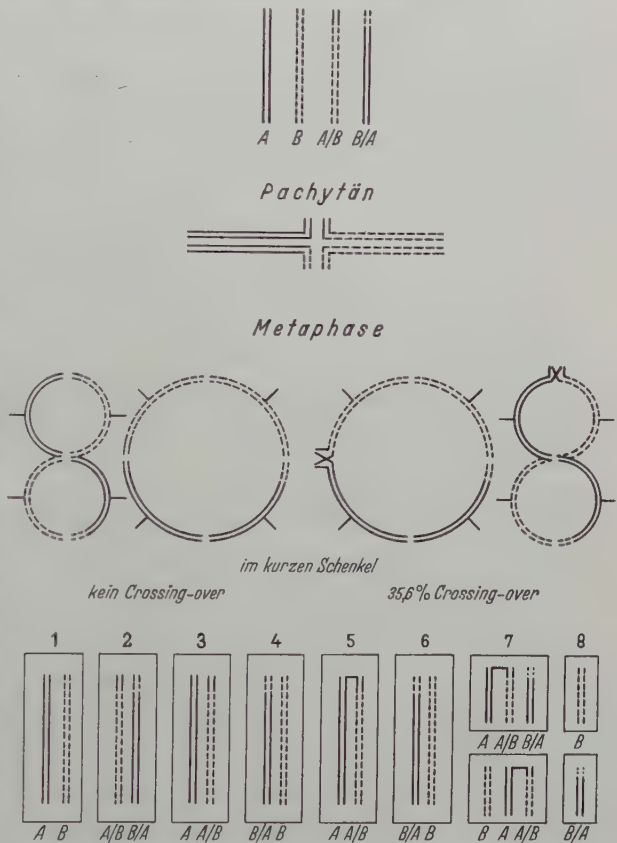


Abb. 10. Translokationsschema mit 35,6%igen crossing over im kurzen Schenkel.

PMZ, in denen diese Störungen auftreten, werden statt 7 und 7 in der Anaphase I 6 und 8 Chromosomen verteilt. Die Aufklärung des Sterilitätswertes dieser Mutante geschah durch Auszählen der falschen Verteilungen in der Anaphase der PMZ, durch Auszählen der auftretenden anomal großen und kleinen Pollenkörner und durch Bestimmung des Sterilitätsgrades. Auf Grund dieser Daten wurden in Abb. 10 die verschiedenen Gonentypen dargestellt. In 64% der PMZ findet kein crossing over oder nur ein solches im langen Schenkel der Translokation statt; die Hälfte der betreffenden Gonen (32,2%) ist lebensfähig (1,2 der Abb. 10), die andere dagegen taub (3,4 in Abb. 10). In den übrigen 36% kommt ein crossing over im kurzen Schenkel mit nachfolgender Verklebung vor. Je nach Lage des 4-Ringes in der Spindel treten die Typen 5, 6 und 7, 8 (Abb. 10) auf, die jedoch alle lebensunfähig sind. Pollenkörner mit 8 Chromosomen (Fall 7 der Abb. 10) sind bedeutend größer als solche mit 7, Pollenkörner mit 6 Chromosomen (Fall 8 der Abb. 10) erheblich kleiner. Aber auch bei fehlenden Chromosomensegmenten (3—6 in Abb. 10) sind die Pollenkörner kleiner als normal.

D. Besprechung der Ergebnisse.

I. Entwicklung und Funktion des Tapetums.

Die erste Untersuchung des Tapetums geht auf STRASBURGER zurück, der 1882 die Zweikernigkeit dieser Zellen beobachtete. Die 2 Kerne können sich mitotisch noch 1- oder 2mal teilen und je 2 der Teilungsprodukte sollen gelegentlich wieder miteinander verschmelzen. Außerdem kann durch endomitotische Teilungen eine Kernvolumenvergrößerung zustande kommen (BROWN 1949). Die Tapetumzellen von *Petunia* sind meist zweikernig; nur sehr selten treten noch weitere Teilungen auf.

Direkte Nachweise der sekretorischen Tapetumfunktion während der Meiosis konnten bisher durch entsprechende Farbreaktionen noch nicht erbracht werden. Jedoch sprechen die frühen Fehlfunktionen des Tapetums von *Lycopersicum* (RICK 1948) sowie die der Petunienmutante *ms₁* für eine Stoffabgabe während der meiotischen Teilungen. RICK beschränkte sich bei den pollensterilen Tomatenmutanten auf eine Feststellung der Zellgrößenveränderung des Tapetums und der in verschiedenen Stadien einsetzenden Degenerationserscheinungen der PMZ. Bei *Petunia* läßt sich eine Fehlsekretion in der Diakinese nachweisen: In homozygoten *ms₁ms₁*-Pflanzen scheidet das Tapetum in diesem Stadium ein Sekret ab, das, von außen nach innen fortschreitend, Zellwand, Zellplasma und schließlich die Kernteile zum Zerfall bringt. Daß hierbei eine Sekretion noch funktionstüchtiger Tapetumzellen vorliegt, beweist die Tatsache, daß die Degeneration der Tapetumzellen selbst erst in einem Stadium eintritt, in dem bereits die Auflösung der PMZ weit fortgeschritten ist. Die zunehmende Färbbarkeit des die PMZ umgebenden Fehlsekretes ist wohl den abgebauten Pektinstoffen der PMZ-Wand zuzuschreiben; auch bei normaler Auflösung der PMZ-Membran erscheint der Antherensaft stärker gefärbt als vorher (vgl. DORSEY 1914, bei *Vitis*).

Eine *postmeiotische Sekretion* ist bei *Petunia* ebenfalls wahrscheinlich; wenn die jungen Pollen ungefähr $\frac{1}{3}$ ihrer definitiven Größe erreicht haben, bildet das Tapetum fettige Stoffe. Sie treten offenbar aus dem Tapetumprotoplasten aus und werden in irgendeiner Form den Pollenkörnern zugeführt, denn in den reifen Pollen sind hernach Fette nachzuweisen. Ähnliche Einschlüsse in den

Tapetumzellen stellten bereits MASCRE (1919) und MASCRE und THOMAS (1930) an *Datura* fest. Als weiteres Beispiel einer sekretorischen Funktion lassen sich die pollensterilen *Oenothera*-Mutanten von OEHLKERS (1927) und HARTE und BISSINGER (1952) anführen. Doch bewirken die Sterilitätsfaktoren *fr* und *ster* an 2 verschiedenen Stellen der Entwicklung, jedoch erst kurz vor Pollenreife, Tapetumfehlsekretionen mit nachfolgender Vernichtung des Pollenmaterials. Während bei *fr/fr*-Pflanzen, wie bei der Petunienmutante *ms*₁, das Fehlsekret zuerst die Zellwand zerstört und die Vernichtung des Zellinneren zur Folge hat, beobachteten HARTE und BISSINGER (1952) bei *ster/ster*-Mutanten in einem späteren Pollenentwicklungsstadium durch Sekretwirkung einen Zerfall der Zellkerne vor Auflösung der Wände.

Jedem der erwähnten Fälle liegt eine Fehlleistung des Tapetums zugrunde, indem von ihm entweder falsche Sekrete ausgeschieden werden oder zuviel von der normalen zur Wirkung gelangt. Im Gegensatz dazu ist die Petunienmutante *ms*₂ durch einen echten Ausfall der normalen ernährenden Funktion ausgezeichnet. Hier sind die Tetraden noch völlig normal und auch die Fettsekretion tritt ein. Aber die Pollenkörner enthalten im Gegensatz zu normalen Pollen, wo Fett gelöst vorkommt, Fetttropfen und im Zusammenhang damit wachsen die Pollenkörner nicht mehr weiter und verkümmern schließlich.

II. Die genetischen Ursachen der Pollensterilität.

Die Pollensterilität ist innerhalb der einzelnen Pflanzengattungen eine weit verbreitete Erscheinung, deren Ursachen mannigfacher Art sein können. Neben plasmatischen Ursachen ist zwischen chromosomalen und Genveränderungen zu unterscheiden, die entweder partielle, bei der nur bestimmte Gonentypen infolge ihrer genetischen Konstitution funktionsfähig sind, oder totale Sterilität herbeiführen, bei der keine oder nur funktionsunfähige Pollenkörner ausgebildet werden. Davon sind die Ursachen von größter Bedeutung, die auf die Wirkung von Pollen- oder Tapetumgenen zurückgeführt werden können. Im folgenden seien Beispiele dafür zusammengefaßt wiedergegeben.

a) *Pollengenmutationen*. Die einzelnen Mutationen, die aus der Literatur bekannt sind, werden in der Reihenfolge der Normalentwicklung aufgeführt.

1. PERSIDKY und MODILEWSKI (1934) berichten von einer *Unterdrückung der Meiosis* in den EMZ von *Nicotiana rustica*. Die weitgehende Übereinstimmung der chromosomalen Verhältnisse der meiotischen Prozesse in PMZ und EMZ läßt darauf schließen, daß das normale Einsetzen der Meiosis auch in den Antheren durch Genwirkung ausgelöst wird.

2. Untersuchungen von BLAKESLEE (1928) sowie BERGNER, CARTLEDGE und BLAKESLEE (1934) an *Datura stramonium* zeigten zum erstenmal eine erbliche *Asynapsis* auf. Ein rezessives Gen verhindert die Paarung der homologen Chromosomen und die Chiasmenbildung. Während bei *Datura* und in weiteren Fällen von *Pisum humile* (SUTTON 1937, KOLLER 1938), *Oenothera Lamarckiana* (CATCHESIDE 1939), *Sisyrinchium palmifolium* (HIRSCHHORN 1934), *Capsicum annuum* (PAL und RAMANUJAM 1940), *Zea mays* BEADLE 1930, 1933), *Nicotiana tabacum* CLAUSEN 1931), *Oryza sativa* (RAMANUJAM und PARTHASARATHY 1935, RAMANUJAM 1937) die mutierten Gene eine *Asynapsis sämtlicher Rivalente* bewirken, sind Gene bekannt, die nur *einzelne Chromosomenpaare* zur *Asynapsis*

bringen (AVERY 1929, KOSTOFF 1930, OEHLKERS 1937, EKSTRAND 1932). SOOST (1951) fand 5 verschiedene nichtallele Gene für die Asynapsis bei *Lycopersicum esculentum*.

3. Eine erbliche *Desynapsis*, die sich in einem Chiasmenausfall nach anfänglicher Paarung äußert, wird von LEVAN (1938) für *Allium amplexans* und von BURNHAM (1946) für *Hordeum sativum* angegeben.

4. Bei *Zea mays* kommt es nach BEADLE (1932) zu einer starken *Verklumpung der Diplontänchromosomen* und damit zu weiteren Abnormitäten in der Meta- und Anaphase I. Die Mutante ist pollen- und eizellensteril.

5. LESLEY und FROST (1927) und PHILP und HUSKINS (1931) fanden innerhalb der Gattung *Matthiola incana* pollensterile Mutanten, die sich durch *fehlende Spiralisation* zwischen Diakinese und Metaphase auszeichnen.

6. Für die *Veränderung der heterotypen Spindel* bei *Zea mays* gibt CLARK (1939) ein Gen an, das die Fasern dieser Spindel divergieren läßt. Die Chromosomen können sich in der Telophase I nicht vereinigen und bilden viele Sonderkerne.

7. Durch *Unterdrückung der homöotypen Spindelwirkung* entstehen bei *Datura stramonium* diploide Gonen, die nicht mehr funktionsfähig sind (SATINA und BLAKESLEE 1935).

8. Das *Fehlen der Plasmateilung* nach der Telophase I bei *Zea mays* führt BEADLE (1932a) auf ein rezessives Gen zurück. Die 2. Zellteilung nach der Telophase II fällt bei diesen Mutanten ebenfalls aus, so daß Zellen mit 4fachem Genom entstehen.

9. Bei einer weiteren Mutante von *Zea mays* finden nach der Meiosis weitere Kernteilungen statt, so daß aus einer Tetrade bis zu 23 Gonen entstehen. Ihre Chromosomenzahlen variieren allerdings von 1—6 (BEADLE 1929). SMITH (1942) beschreibt die gleiche Erscheinung an einer Gerstenmutante.

Die aufgeführten mutierten Gene verändern bei Homozygotie den Entwicklungsprozeß *innerhalb der PMZ* und bewirken unmittelbar eine Sterilität des männlichen Geschlechtes.

b) *Tapetumgenmutationen*. Eine mittelbare Beeinträchtigung der Pollenentwicklung tritt bei Veränderungen der Gene ein, welche die Entwicklung und Funktion des Tapetums leiten.

Tapetumgenmutationen wurden bei weitem nicht so zahlreich beobachtet und beschrieben wie Veränderungen bei Pollengenen. Hierher gehören die Untersuchungen von OEHLKERS (1927) und HARTE und BISSINGER (1952) an pollensterilen *Oenothera*-Mutanten. Als weiteres Beispiel ist eine Rasse von *Allium Schoenoprasum* anzuführen, bei der LEVAN (1935) eine Unterdrückung der homöotypen Teilungen in den PMZ fand. Eine Mutante von *Nicotiana rustica* besitzt nach CHRISTOFF (1938) eine genbedingte Störung des normalen Zusammenwirkens der Tapetumzellen mit den PMZ am Ende der homöotypen Teilung, die zur Vernichtung der Haplonten führt. Neun nichtallele Gene bewirken bei *Lycopersicum esculentum* Tapetumstörungen. Sie sind bereits durch die verschiedene Größe der Tapetumzellen erkennbar; die Blockierung der Pollenentwicklung tritt je nach dem betreffenden Gen in der frühen Prophase der Meiosis, in den folgenden Entwicklungsstadien oder erst kurz vor Pollenreife ein. Die Sterilitätsgene ms_1 und ms_2 von *Petunia* sind als letzte zu nennen.

III. Die Genetik der Pollenentwicklung.

Die Analyse der erblichen Pollensterilität dient der Erlangung genauere Kenntnisse solcher Gene, welche die normale Pollenentwicklung direkt oder indirekt über das Tapetum beeinflussen. Voraussetzung für eine normale Pollenentwicklung sind zunächst der Gesamtstoffwechsel der Pflanze, der von der genetischen Konstitution und den Außenbedingungen abhängig ist, und die „Antherengene“, die zunächst eine normale Anlage und später die Öffnung der Staubblätter bewirken. Die eigentliche Entwicklung des Pollens innerhalb der Antheren ist von „Pollen“- und „Tapetumgenen“ gesteuert. Auf Grund der bisher bekannten Mutationen derartiger Gene sei im folgenden ein Schema (Abb. 11) betrachtet, aus dem das Eingreifen der betreffenden Faktoren im Verlauf der Entwicklung übersichtlich dargestellt ist. Bei dieser zusammenfassenden Betrachtung ist allerdings zu bedenken, daß die zugrunde liegenden Untersuchungen an ganz verschiedenen Gattungen höherer Pflanzen gewonnen wurden. Zunächst erweist sich die Auslösung der Meiosis als genbedingt (Gen *A*). Die Paarung wird von den Genen *B* und *C* gesteuert. Vermutlich wirken aber auf diesen entscheidenden meiotischen Prozeß noch weitere Gene ein (vgl. Soost, 1951). Während Gen *C* die Ausbildung von Chiasmata leitet, sorgt Gen *D* für die Terminalisierung derselben. Spiralisation der Diakinesechromosomen durch Gen *E*, konvergente Spindelausbildung durch Gen *F* und Zytokinese I durch Gen *G* (nur bei Pflanzen mit sukzedaner Zellteilung) sind die Wirkungen weiterer Gene während der 1. Reifeteilung. Die Gene der 2. meiotischen Teilung lösen diese Teilung aus (Gen *H*), regeln eine normale Spindelwirkung (Gen *I*), eine 2. Plasmateilung (Gen *K*) und bewirken die Lösung aus dem Tetradenverband (Gen *L*). Die genannten Gene wirken in der Diplophase. RENNER (1919) berichtet von einem Gen, dessen Einfluß im jungen haploiden Pollenkern von *Oenothera* zu beobachten ist. *Oe. lamarckiana* und *Oe. muricata* unterscheiden sich in diesem einen Gen, welches die Pollengröße und die Gestalt der eingelagerten Stärkekörner bestimmt. In den Heterozygoten lassen sich deutlich 50% Pollenkörner der einen Art und 50% der anderen Art nachweisen. Dieses Gen (Abb. 11: Gen *M*) ist ein wichtiger Hinweis für genetische Faktoren der Haplophase, die Um- oder Abbauprozesse der Reservestoffe innerhalb des Pollenkornes sowie die Größe des Pollens bei normalen chromosomalen Verhältnissen regeln.

Die „Tapetumgene“ sind für Form und Größe der Tapetumzellen sowie für die ernährungsphysiologische Funktion des Tapetums verantwortlich. Die Gene 1—4 dienen der Ernährung der PMZ während der 1. Reifeteilung, während die vom Gen 5 ausgelöste Sekretion die 2. Reifeteilung ermöglicht. Die Gene 6—8 fördern Bildung und Wachstum der jungen Pollenkörner, die Faktoren 9—11 regulieren Ausbildung und Abgabe der im reifen Pollenkorn eingelagerten Reservesubstanzen. Die in der schematischen Darstellung (Abb. 11) aufgeführten 11 „Tapetumgene“, deren Wirkung aus den oben angeführten Untersuchungen bekannt sind, sprechen für eine vielfältige genetische Steuerung der ernährungsphysiologischen Funktion des Tapetums. Angesichts seiner mannigfachen Stoffausbildungen und Stoffausscheidungen während der Pollenentwicklung darf es als sicher gelten, daß die Zahl der Tapetumgene in Wirklichkeit noch viel größer ist.

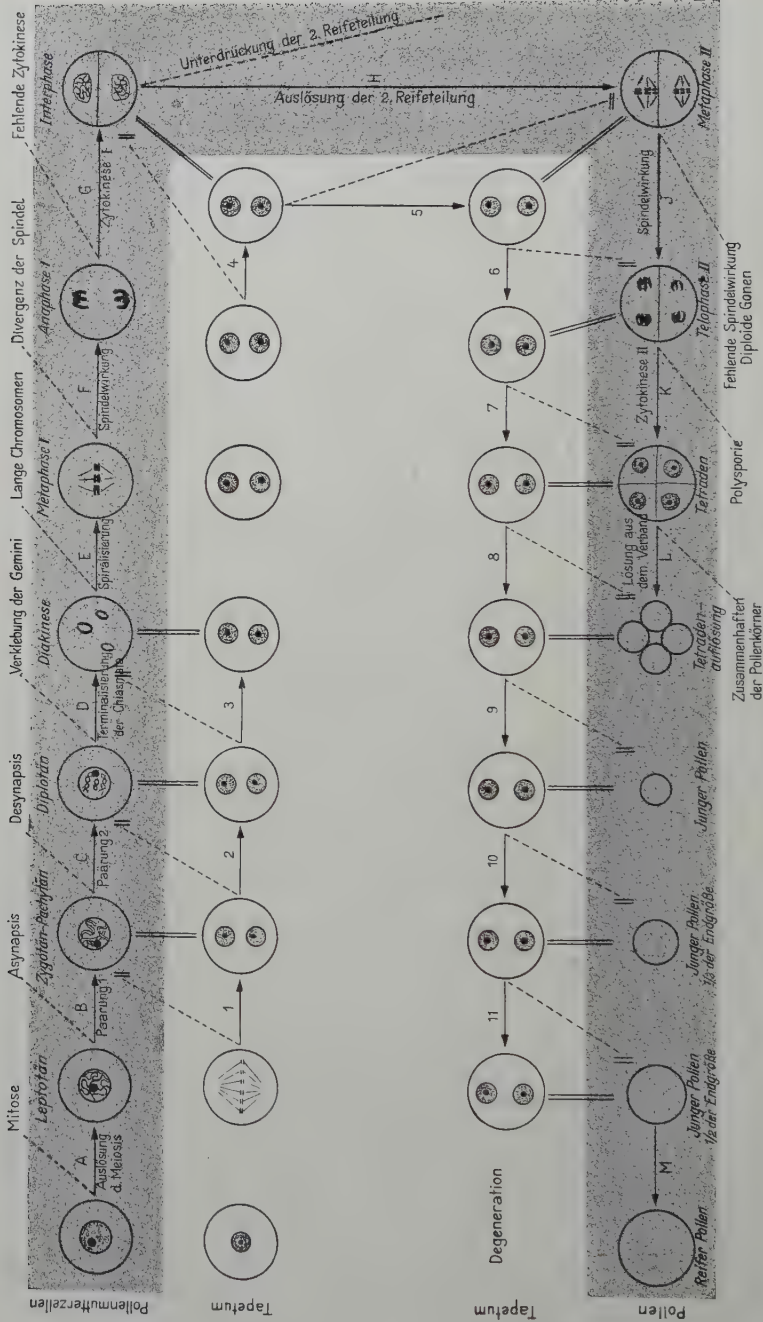


Abb. 11. Schematische Darstellung der Genetik der Pollenentwicklung. Schwarz: PMZ bzw. Pollen; weiß: Tapetum.

"Pollengene"

A Auslösung der Meiosis
a Unterdrückung der Meiosis

B Paarung I

b Asynapsis
Capisium annuum
Datura stramonium

*Hordeum*¹

*Lycopersicum esculentum*²

*Nicotiana*¹

Nicotiana glauca

Nicotiana glauca

Nicotiana glauca

Oenothera lamarckiana

*Oenothera hookeri*¹

Oryza sativa

Pisum humile

Sisyrinchium palmatolium

Zea mays

C Paarung II

c Desynapsis

Allium ampeloprasum

Hordeum sativum

D Terminalisierung der Chiasmata

d Verklebung der Gemini

Zea mays

E Spiralisierung der Diakinesenchromosomen

e Lange Metaphasenchromosomen

Mathiola incana

F Konvergenz der heterotypen Spindel

f Divergenz der heterotypen Spindel

Zea mays

G Zytokinese I

g fehlende Zytokinese

Zea mays

H Auslösung der 2. Reifeteilung

h Unterdrückung der 2. Reifeteilung

Allium schoenoprasum

I Homotype Spindelwirkung

i fehlende Spindelwirkung = diploide Gonon

Datura stramonium

PERSDSKY und MODILEWSKI (1934)

PAL und RAMANUJAM (1940)

BLAKESLEE (1928)

BERNER, CARLEIDGE

und BLAKESLEE (1934)

EKSTRAND (1932)

SOOST (1951)

KOSTOFF (1930)

CLAUSEN (1931)

AVERY (1929)

CATCHESIDE (1939)

OEHLERS (1937)

RAMANUJAM

und PARTHASARATHY (1935)

SUTTON (1937)

KOLLER (1938)

HIRSCHORN (1934)

BEADLE (1930, 1933)

BEADLE und MCCLINTOCK (1928)

LEVAN (1938)

BURNHAM (1946)

BEADLE (1932)

LESLEY und FROST (1927)

PHILP und HUSKINS (1931)

CLARK (1939)

BEADLE (1932a)

LEVAN (1935)

SATINA und BLAKESLEE (1935)

K Zytokinese II

k fehlende Zytokinese — weitere Teilungsbereitschaft — Polysporie

Hordeum sativum

Zea mays

l Lösung der Pollenkörner aus dem Tetradenverband

l Zusammenhaften der Pollen im Tetradenverband

Petunia nictitans

M Pollengröße und Gestalt der Reservestoffe im Pollenkorn

Oenothera lamarckiana - muricata

RENNER (1919)

"Tapetogene"

1 Degeneration im Zygoten-Pachytän

1' Degeneration im Zygoten-Pachytän

Lycopersicum esculentum

2 Degeneration im Diplotän

2' Degeneration im Diplotän

Lycopersicum esculentum

3 Degeneration in der Diakinese

3' Degeneration in der Diakinese

Petunia hybrida

4 Degeneration in der Interphase

4' Degeneration in der Interphase

Allium schoenoprasum

5 Degeneration während der 2. Reifeteilung

5' Degeneration während der 2. Reifeteilung

Lycopersicum esculentum

6 Degeneration am Ende der 2. Reifeteilung

6' Degeneration am Ende der 2. Reifeteilung

Nicotiana rustica

7 Degeneration im Tetradenstadium

7' Degeneration im Tetradenstadium

Lycopersicum esculentum

8 Degeneration bei Tetradenauflösung

8' Degeneration bei Tetradenauflösung

Lycopersicum esculentum

9 Degeneration kurz nach Tetradenauflösung

9' Degeneration kurz nach Tetradenauflösung

Lycopersicum esculentum

Oenothera

10 Degeneration junger Pollenkörner

10' Degeneration junger Pollenkörner

Lycopersicum esculentum

Oenothera

11 Degeneration kurz vor Pollenreife

11' Degeneration kurz vor Pollenreife

Petunia hybrida

¹ Partielle Asynapsis.

² Soost fand 5 verschiedene nichtallele Gene für diesen Vorgang.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Entwicklungsgeschichtlich-genetische Untersuchungen der Pollenentwicklung normaler und pollensteriler Mutanten von *Petunia hybrida* ergaben:

1. Die Zahl der durchschnittlichen Endbindungen der 7 Diakinese-paare beträgt 13,29, während die Meiosis der EMZ nur 11,72 diakinetische Bindungen aufweist.

2. Das Tapetum ist ein typisches Sekretionstapetum. Es bildet und sezerniert ölige Fette als Reservestoffe für das Pollenkorn. *Petunia* besitzt Fettpollen.

3. Die den Untersuchungen zugrunde liegende pollensterile Mutante stellt eine Komplexmutante dar. Der Komplex umfaßt 3 gekoppelte Gene (ms_1 , ms_2 und *parv*), deren gegenseitige Lage ermittelt wurde.

4. Die beiden Sterilitätsfaktoren ms_1 und ms_2 greifen zu verschiedenen Zeitpunkten über das Tapetum in die Pollenentwicklung ein. Das Gen ms_1 bewirkt eine Fehlsekretion des Tapetums während der Diakinese, wodurch die PMZ schon in Meiosis I degenerieren. Das Gen ms_2 bedingt kurz vor Pollenreife den Ausfall eines Tapetumsekretionsprozesses, so daß sämtliche Pollenkörner infolge mangelhafter Ernährung zugrunde gehen. Das Gen *parv* ist ein Faktor für Blütengröße.

5. Die Pollenentwicklung erscheint als Prozeß, der von einer großen Anzahl von Genen gesteuert wird, wobei die ernährungsphysiologische Funktion des Tapetums ebenfalls vielfältiger genetischer Kontrolle untersteht. In einem Schema wird die derzeitige Kenntnis von der Wirkung der Pollen- und Tapetumgene zusammengefaßt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. J. STRAUB, sage ich für die Anregung und für das stete Interesse am Fortgang dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank.

Herrn Dr. H. F. LINSKENS danke ich für anregende Diskussionen.

Literatur.

- AVERY, P.: Chromosome number and morphology in *Nicotiana*. IV. The nature and effects of chromosomal irregularities in *N. alata* var. *grandiflora*. Univ. California Publ. Bot. **11**, 265 (1929). — BEADLE, G. W.: A gene for supernumerary mitoses during spore development in *Zea mays*. Science (Lancaster, Pa.) **70**, 406 (1929). — Genetical and cytological studies of Mendelian asynapsis in *Zea mays*. Cornell Univ. Agric. Exper. Stat. Mem. **129** (1930). — A gene for sticky chromosomes in *Zea mays*. Z. Vererbungslehre **63**, 195 (1932). — A Gene in *Zea mays* for failure of cytokinesis during meiosis. Cytologia **3**, 142 (1932a). — Further studies of asynaptic maize. Cytologia **4**, 269 (1933). — BEADLE, G. W., and B. McCLINTOCK: A genic disturbance of meiosis in *Zea mays*. Science (Lancaster, Pa.) **68**, 433 (1928). — BERGNER, A. D., J. L. CARTLEDGE and A. F. BLAKESLEE: Chromosome behaviour due to gene which prevent metaphase pairing in *Datura*. Cytologia **6**, 19 (1934). — BLAKESLEE, A. F.: Genetics of *Datura*. Z. Vererbungslehre, Suppl. **1**, 117 (1928). — BROWN, SP. W.: Endomitosis in the tapetum of tomato. Amer. J. Bot. **36**, 703 (1949). — BURNHAM, C. R.: A gene for „long“ chromosomes in barley. Genetics **31**, 212 (1946). — CATCHESIDE, D. G.: Asynaptic *Oenothera*. New Phytologist **38**, 323 (1939). — CHRISTOFF, M.: Male sterility observed in *Nicotiana rustica*. Jb. Univ. Sofia, Land- u. Fortwirtsch. Fak. **16**, 470 (1938). — CLARK, F. J.: Cytogenetic studies of divergent meiotic spindle formation in *Zea mays*. Amer. J. Bot. **27**, 547 (1939). — CLAUSEN, R. E.: Inheritance in *Nicotiana tabacum*. XI. The fluted assemblage. Amer. Naturalist **65**, 316 (1931). — DORSEY: Pollen development in the grape, with special reference to sterility. Univ. Minnesota Stat. Bull. **144** (1914). — EKSTRAND, H.: Ein Fall von erblicher Asyndese bei *Hordeum*. Sv. bot. Tidskr. **26**, 292 (1932). — FISHER, R. A.: Statistical methods for research-workers. London 1938. — HARTE, C., u. B. BISSINGER: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung der durch die Faktoren *fr* und *ster* bedingten Pollensterilität bei *Oenothera*. Z. Vererbungslehre **84**,

251 (1952). — HEITZ, E.: Die Nuklealquetschmethode. Ber. dtsch. bot. Ges. **53**, 870 (1935). — HIRSCHHORN, E.: Observaciones sobre la meiosis normal; un caso de asynapsis en *Sisyrinchium*. Rev. argent. Agron. **1**, 66 (1934). KAPPERT, H.: Die vererbungs-wissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. Berlin und Hamburg 1953. — KOLLER, P. CH.: Asynapsis in *Pisum sativum*. J. Genet. **36**, 275 (1938). — KOLTHOFF, I. M.: Säuren, Basen, Indikatoren. Berlin 1932. — KOSTOFF, D.: A chromosomal chimera in Tobacco. Somatic non-disjunction and doubling of chromosomes in a *Nicotiana* hybrid. J. Hered. **21**, 445 (1930). — KUCKUCK, H., u. A. MUDRA: Lehrbuch der allgemeinen Pflanzenzüchtung. Stuttgart 1950. — LAMPRECHT, H.: Über partielle und Semisterilität, insbesondere bei *Pisum sativum*. Z. Pflanzenzüchtg **30**, 422 (1951). — LESLEY, M. M., and H. B. FROST: Mendelian inheritance of chromosome shape in *Matthiola*. Genetics **12**, 449 (1927). — LEVAN, A.: Zytologische Studien an *Allium schoenoprasum*. Hereditas (Lund) **22**, 1 (1935). — Eine erbliche Anomalie der Samenanlage bei *Petunia*. Bot. Not. **1937**, 35. — A triploid asynaptic *Allium amplexans* from California. Nature (Lond.) **142**, 118 (1938). — A gene for remaining in tetrads of ripe pollen in *Petunia*. Hereditas (Lund) **28**, 429 (1942). — MASCRE, M.: Sur le rôle de l'assise nouricière du pollen. C. rend. Acad. Sci. Paris **168**, 1120 (1919). — MASCRE, M., et R. THOMAS: Le tapis staminal (assise nouricière du pollen) chez les angiospermes. Bull. Soc. France **77**, 654 (1930). — MECHELKE, F.: Die Entstehung der polyploiden Zellkerne des Antherentagiums bei *Antirrhinum majus* L. Chromosoma **5**, 199 (1952). — MOLISCH, H.: Mikrochemie der Pflanze. Jena 1923. — OEHLKERS, F.: Entwicklungsgeschichte der Pollensterilität einiger Oenotheren. Z. Vererbungslehre **43**, 265 (1927). — Neue Versuche über zytologisch-genetische Probleme (Physiologie der Meiosis). Biol. Zbl. **57**, 126 (1937). — Über Chromosomenfärbungen mit Gentianaviolett. Z. Bot. **36**, 55 (1940). — PAL, B. P., and S. RAMANUJAM: Asynapsis in Chilli (*Capsicum annum*). Current Sci. **9**, 126 (1940). — PERSIDSKY, D., and J. MODILEWSKI: Cytological and embryological studies of the chief varieties of *Nicotiana rustica* L. J. Inst. bot. Acad. Sci. Ukraine **3**, 33 (1934). — PHILP, J., and C. L. HUSKINS: The cytology of *Matthiola incana*. J. Genet. **24**, 359 (1931). — RAMANUJAM, S.: Cytogenetical studies in the Oryzae. II. Cytological behaviour of an autotriploid in rice (*Oryza sativa*). J. Genet. **35**, 183 (1937). — RAMANUJAM, S., and N. PARTHASARATHI: An asynaptic mutant in rice (*Oryza sativa*). Proc. Indian. Acad. Sci. Sect. B **2**, 80 (1935). — RENNER, O.: Über Sichtbarwerden der MENDELSchen Spaltung in Pollen einiger Oenotheren. Ber. dtsch. bot. Ges. **37**, 128 (1919). — RICK, CH.: Genetics and development of nine male-sterile tomato mutants. Hilgardia **18**, 599 (1948). — ROMEIS, B.: Taschenbuch der mikroskopischen Technik. München-Berlin 1948. — SATINA, S., and A. F. BLAKESLEE: Cytological effects of a gene in *Datura* which causes dyad formation in sporogenesis. Bot. Gaz. **96**, 521 (1935). — SMITH, L.: Cytogenetics of a factor for multiploid sporocytes in barley. Amer. J. Bot. **29**, 451 (1942). — SOOST, R. K.: Comparative cytology and genetics of asynaptic mutants in *Lycopersicum esculentum* MILL. Genetics **36**, 410 (1951). — STRASBURGER, E.: Über den Teilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältnis der Kernteilung zur Zellteilung. Arch. mikrosk. Anat. **21**, 476 (1882). — SUTTON, E.: Cytological studies of *Pisum*. I. Structural hybridity in *Pisum humile*. Ann. Bot., N. S. **1**, 785 (1937). — SVENSSON, H. G.: Zytologisch-embryologische Solanaceenstudien. 1. Über die Samenentwicklung von *Hyoscyamus niger* L. Sv. bot. Tidskr. **20**, 420 (1926). — TISCHLER, G.: Allgemeine Pflanzenkaryologie. Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. II. Berlin 1951.

Dr. GOTTHARD WELZEL, Bonn, Kölnstr. 415.

Aus dem Botanischen Institut Freiburg i. Br.

EIN KONFIDENZBEREICH FÜR DEN ERWARTUNGSWERT EINES MITTELWERTEPAARES.

Von

PETER IHM.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 19. September 1953.)

Wenn wir eine Anzahl N von Meßwerten x_j haben, $j = 1, 2, \dots, N$, so können wir das arithmetische Mittel \bar{x} und die Standardabweichung s berechnen. Es ist dann allgemein üblich, als Ergebnis der Messungen anzugeben, man habe das arithmetische Mittel $\bar{x} \pm k s / \sqrt{N}$ erhalten, $k = 1$, aber auch $k > 1$. Wir können nun fragen, warum wir derartig vorgehen und was wir uns unter dieser Darstellung vorstellen. Unsere Grundfrage ist die nach dem Erwartungswert von \bar{x} , d.h. dem Werte, den wir erhalten, wenn $N \rightarrow \infty$ strebt; wir wollen diesen Wert mit $E(\bar{x}) = m$ bezeichnen. Haben wir \bar{x} und s berechnet, so soll die Darstellung $\bar{x} \pm k s / \sqrt{N}$ zu einer Aussage über m verwendet werden. Es ist Zweck dieser Arbeit, die auf dem Konfidenzschluß beruhende Interpretation dieser Darstellung zu geben, die nicht allgemein bekannt ist. Darüber hinaus soll eine Methode angegeben werden, die es erlaubt, das Verfahren auf den Erwartungswert des Mittelwertepaares eines zweidimensionalen normalverteilten Merkmales auszudehnen.

Wir nehmen an, daß N Meßwerte x_j erhalten wurden, die eine stetige Zufallsverteilung haben. Wir erhalten das arithmetische Mittel aus

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N x_j. \quad (1)$$

Nun sei m der Erwartungswert von \bar{x} , $E(\bar{x}) = m$, und eine Größe z so definiert, daß $z = \bar{x} - m$ ist. z hat ebenfalls eine stetige Zufallsverteilung $f(z)$, von der wir annehmen wollen, daß sie um den Erwartungswert $E(z) = 0$ symmetrisch ist. Betrachten wir ein offenes Intervall I , das alle Punkte enthält, für die $a < z < b$ ist, so sprechen wir von dem *Ereignis*, daß z in I liegt. Die Wahrscheinlichkeit P dieses Ereignisses bezeichnet man mit $P(a < z < b)$. Da nach der allgemeinen Definition einer Häufigkeitsfunktion das Integral von $f(z)$, genommen über das Definitionsintervall von z , Einheit und die Verteilung von z um $E(z) = 0$ symmetrisch ist, ist $P(z < 0) = 1/2$ und $P(z \geq 0) = 1/2$. Infolge von $z = \bar{x} - m$ muß für $z < 0$ offenbar $\bar{x} < m$ sein, für $z \geq 0$ offenbar $\bar{x} \geq m$. Wir sehen sofort, daß die Wahrscheinlichkeit eines richtigen Schlusses $1/2$ ist, wenn wir $m > \bar{x}$ behaupten. Ebenso ist die Wahrscheinlichkeit eines Fehlschlusses $1/2$, wenn wir $m > \bar{x}$ annehmen. Einen derartigen Schluß nennt man *Konfidenzschluß*. Seine Theorie wurde 1928 von J. NEYMAN ausgearbeitet. Seine Besonderheit liegt darin, daß nicht ausgesagt wird, daß — wenn wir von dem angeführten Beispiel ausgehen — die Wahrscheinlichkeit, daß $m > \bar{x}$ ist, $1/2$ beträgt, sondern nur, daß

die Wahrscheinlichkeit eines richtigen Schlusses $1/2$ ist, wenn nach der gegebenen Vorschrift verfahren und jeweils $m > \bar{x}$ behauptet wird.

Die praktische Bedeutung des Konfidenzschlusses wird aus dem Gesagten nicht sofort klar. Wir gehen daher zu einem nächsten Beispiel über: Wir wollen annehmen, daß \bar{x} normalverteilt ist mit dem Erwartungswert $E(\bar{x}) = m$ und der Varianz σ^2/N . Es ist bekannt, daß die Wahrscheinlichkeit, daß $\bar{x} - m$ größer als $-3\sigma/\sqrt{N}$ und kleiner als $3\sigma/\sqrt{N}$ ist, $0.9973 = 1 - 0.0027$ beträgt. Als Wahrscheinlichkeitsfunktion geschrieben heißt dies

$$P\left(-\frac{3\sigma}{\sqrt{N}} < \bar{x} - m < \frac{3\sigma}{\sqrt{N}}\right) = 0.9973. \quad (2)$$

Für $0 < \alpha < 1$ und $\lambda = \lambda(\alpha) > 0$ lautet (2) allgemein

$$P\left(-\frac{\lambda\sigma}{\sqrt{N}} < \bar{x} - m < \frac{\lambda\sigma}{\sqrt{N}}\right) = \alpha. \quad (3)$$

Es läßt sich leicht zeigen, daß die Ungleichung in der Klammer von (3) identisch ist mit

$$\bar{x} - \frac{\lambda\sigma}{\sqrt{N}} < m < \bar{x} + \frac{\lambda\sigma}{\sqrt{N}}. \quad (4)$$

Schreiben wir vor, diese Ungleichung zu behaupten, so folgt aus (3), daß die Wahrscheinlichkeit eines richtigen Schlusses α ist. Das Intervall, dessen untere und obere Grenzen $\bar{x} - \lambda\sigma/\sqrt{N}$ und $\bar{x} + \lambda\sigma/\sqrt{N}$ sind, wird *Konfidenzbereich* oder *Konfidenzintervall* genannt. Wegen der Stetigkeit der Normalverteilung kann man auch

$$\bar{x} - \frac{\lambda\sigma}{\sqrt{N}} \leq m \leq \bar{x} + \frac{\lambda\sigma}{\sqrt{N}} \quad (5)$$

schreiben, ohne daß sich an α etwas ändert. Ob wir (4) oder (5) verwenden, ist nur eine Sache der Konvention. Im Falle der Normalverteilung ist für $\alpha = 0.99$ $\lambda = 2.576$ und für $\alpha = 0.95$ $\lambda = 1.960$. Schreiben wir also z.B. $\bar{x} \pm 1.96\sigma/\sqrt{N}$, so behaupten wir

$$\bar{x} - 1.96 \frac{\sigma}{\sqrt{N}} < m < \bar{x} + 1.96 \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

und wissen, daß wir in 5% aller Fälle einen Fehlschluß begehen, wenn wir annehmen, daß m zwischen den Grenzen $\bar{x} \pm 1.96\sigma/\sqrt{N}$ liegt. Nun ist hier aber die Kenntnis der Varianz σ^2 vorausgesetzt. Ein Konfidenzintervall läßt sich aber auch bei deren Unkenntnis angeben, indem man von STUDENTS t -Verteilung ausgeht. Ist \bar{x} wieder das arithmetische Mittel (1), $E(\bar{x}) = m$ dessen Erwartungswert und s^2 der Schätzwert von σ^2 , nämlich

$$s^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{j=1}^N (x_j - \bar{x})^2 = \frac{1}{N-1} \left\{ \sum_{j=1}^N x_j^2 - N\bar{x}^2 \right\}, \quad (6)$$

so hat die Größe

$$t = \frac{\bar{x} - m}{s} \sqrt{N} \quad (7)$$

STUDENTS t -Verteilung für $\nu = N - 1$ Freiheitsgrade. Wir können nun für ein vorgegebenes α ein $t_0 > 0$ so bestimmen, daß

$$P(-t_0 < t < t_0) = P(|t| < t_0) = \alpha \quad (8)$$

wird. t nach (7) einsetzend erhalten wir für die Ungleichung in der Klammer

$$\bar{x} - \frac{t_0 s}{\sqrt{N}} < m < \bar{x} + \frac{t_0 s}{\sqrt{N}}. \quad (9)$$

Nach (9) ist die Wahrscheinlichkeit eines richtigen Schlusses gleich α , wenn wir behaupten, daß m dem Intervall, dessen Grenzen $\bar{x} \pm t_0 s / \sqrt{N}$ sind, angehört. Man liest in vielen Arbeiten die Angabe $\bar{x} \pm s / \sqrt{N}$. Dies ist nicht sehr vorteilhaft. Ein Blick in eine Tafel des Integrales von t (z.B. FISHER und YATES 1949, Tabelle III) zeigt, daß für $\nu = 5$ Freiheitsgrade (die Autoren schreiben $\nu = n$) für $\alpha = 0.95$ $t_0 = 2.571$ ist, für $\nu = 10$ $t_0 = 2.228^1$. Die Bezeichnungsweise $\bar{x} \pm s / \sqrt{N}$ gibt daher ohne Angabe des Umfanges N der Stichprobe keinen Aufschluß über die Wahrscheinlichkeit eines richtigen Schlusses. Es ist daher empfehlenswert, stets $\bar{x} \pm t_0 s / \sqrt{N}$ anzugeben bei vorhergehender Angabe des Konfidenzkoeffizienten α . Die so bezeichneten Konfidenzintervalle gelten dann alle für das gleiche α . Es mag hinsichtlich der Wahl von α einige Zweifel geben. Das dem 3fachen mittleren Fehler entsprechende $\alpha = 0.9973$ wird kaum noch verwendet. Die Verwendung einer derartigen Zahl geht darauf zurück, daß man früher in Vielfachen λ der Abszisseneinheit der standardisierten Normalverteilung rechnete und 3 eine leichter zu merkende Zahl ist als z.B. die zu $\alpha = 0.99$ gehörige Zahl $\lambda = 2.576$. Mit der Erweiterung der auf der Normalverteilung beruhenden Tests durch Einführung von K. PEARSONS χ^2 erwies es sich als zweckmäßig, mit α oder $P = 1 - \alpha$ zu rechnen, und eine Zahl wie 0.9973 wurde aus dem gleichen Grunde, aus dem sie eingeführt wurde, wieder aufgegeben. An ihrer Stelle kamen $\alpha = 0.99$, d.h. $P = 0.01$ oder $\alpha = 0.95$, d.h. $P = 0.05$ in Gebrauch. $\alpha = 0.95$ bzw. $\alpha = 0.99$ bedeutet, daß wir in einem Falle unter 20 bzw. unter 100 einen Fehlschluß begehen, wenn wir m oder einen entsprechenden Parameter im angegebenen Konfidenzbereich vermuten. Die Wahl des Konfidenzkoeffizienten α , bei der auch beliebige von 0.95 und 0.99 verschiedene Werte verwendet werden können, hängt davon ab, welches Fehlerrisiko wir im gegebenen Falle einzugehen bereit sind.

Im vorangegangenen Beispiel wurde t_0 so gewählt, daß (8) zutraf. Es ist aber auch möglich, ein t'_0 und t''_0 so zu bestimmen, daß $P(t \leq -t'_0) = 1 - \alpha'$ und $P(t \geq t''_0) = 1 - \alpha''$ ist, derart, daß $\alpha = \alpha' + \alpha'' - 1$ ist. Daraus folgt dann $P(-t'_0 < t < t''_0) = \alpha$ und

$$\bar{x} - \frac{t'_0 s}{\sqrt{N}} < m < \bar{x} + \frac{t''_0 s}{\sqrt{N}}. \quad (10)$$

Es gibt für ein vorgegebenes α also nicht nur ein einziges Konfidenzintervall. In (8) liegt 0 in der Mitte des durch $\pm t_0$ begrenzten Intervalles; daher nennt man das durch (4) gegebene Intervall *zentral*.

Ohne auf weitere Probleme des Konfidenzschlusses im eindimensionalen Falle einzugehen², soll der Fall einer zweidimensionalen Normalverteilung betrachtet werden. Wir nehmen an, daß wir an jedem Individuum einer Grundgesamtheit

¹ Es sei erwähnt, daß FISHER und YATES die „Probability“ P angeben. Es ist aber $P = 1 - \alpha$.

² Eine ausführliche Darstellung findet sich bei KENDALL 1951.

2 Merkmale, x_1 und x_2 , messen können — das Merkmal ist also zweidimensional. Haben x_1 und x_2 , die korreliert sein können, jeweils eine Normalverteilung mit den Erwartungswerten $E(x_1) = m_1$ und $E(x_2) = m_2$, so ist ihre gemeinsame Verteilung die zweidimensionale Normalverteilung. Wir wollen annehmen, daß eine Stichprobe von N Individuen erhoben wurde, wobei die Merkmale x_{1j} und x_{2j} gemessen wurden, $j = 1, 2, \dots, N$. Wir erhalten die arithmetischen Mittel

$$\left. \begin{aligned} \bar{x}_1 &= \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N x_{1j}, \\ \bar{x}_2 &= \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N x_{2j}, \end{aligned} \right\} \quad (11)$$

ferner die Quadrat- und Produktsummen

$$\left. \begin{aligned} c_{11} &= \sum_{j=1}^N (x_{1j} - \bar{x}_1)^2 = \sum_{j=1}^N x_{1j}^2 - N \bar{x}_1^2, \\ c_{22} &= \sum_{j=1}^N (x_{2j} - \bar{x}_2)^2 = \sum_{j=1}^N x_{2j}^2 - N \bar{x}_2^2, \\ c_{12} &= \sum_{j=1}^N (x_{1j} - \bar{x}_1)(x_{2j} - \bar{x}_2) = \sum_{j=1}^N x_{1j} x_{2j} - N \bar{x}_1 \bar{x}_2. \end{aligned} \right\} \quad (12)$$

STUDENTS t ist von HOTELLING (1931) für den zwei- und mehrdimensionalen Fall verallgemeinert worden. Im vorliegenden zweidimensionalen Fall ist

$$T^2 = \frac{N(N-1)}{1-r^2} \left\{ \frac{(\bar{x}_1 - m_1)^2}{c_{11}} + \frac{(\bar{x}_2 - m_2)^2}{c_{22}} - \frac{2c_{12}(\bar{x}_1 - m_1)(\bar{x}_2 - m_2)}{c_{11}c_{22}} \right\}, \quad (13)$$

wenn wir

$$r^2 = \frac{c_{12}^2}{c_{11}c_{22}} \quad (14)$$

setzen. Wir sprechen von HOTELLINGS T für $\nu = N - 1$ Freiheitsgrade. T^2 hat eine Verteilung von PEARSONS Typ VI, und wir erhalten durch die Transformation

$$e^2 z = \frac{N-2}{2(N-1)} T^2 = \frac{\nu-1}{2\nu} T^2 \quad (15)$$

eine Größe $e^2 z$, die FISHERS $e^2 z$ -Verteilung für $\nu_1 = 2$, $\nu_2 = N - 2$ Freiheitsgrade hat.

$\bar{x} = (\bar{x}_1, \bar{x}_2)$ sei ein Punkt der x_1, x_2 -Ebene mit rechtwinkligen Koordinaten \bar{x}_1 und \bar{x}_2 . Wir wollen \bar{x} den *Schwerpunkt der Stichprobe* nennen und den Punkt $m = (m_1, m_2)$ mit den Koordinaten m_1 und m_2 den *Erwartungswert des Schwerpunktes*. Unsere Aufgabe besteht nun in der Ermittlung eines Konfidenzbereiches für m . Für ein vorgegebenes α erhalten wir ein T_0^2 derart, daß

$$P(T^2 < T_0^2) = 1 - \left(1 + \frac{T^2}{N-1}\right)^{-\frac{N-2}{2}} = \alpha \quad (16)$$

ist, wobei wir T_0^2 aus Tabelle 3 für $\alpha = 0.95$ und $\alpha = 0.99$, oder, wenn andere Werte von α verwendet werden sollen, unter Benutzung von (15) aus FISHERS Tabellen auf eine Stelle hinter dem Komma genau erhalten können (FISHER und YATES 1949). (13) ist die Gleichung einer Ellipse, die den Mittelpunkt

$m = (m_1, m_2)$ hat. Durch Verschiebung des Ursprungs des Koordinatensystems zum Punkt m und gleichzeitige Drehung der Achsen um den Winkel φ , der sich aus

$$\left. \begin{aligned} \operatorname{tg} 2\varphi &= \frac{2c_{12}}{c_{11} - c_{22}}, \quad c_{12} \neq 0, \\ \varphi &= 0, \quad c_{12} = 0, \end{aligned} \right\} \quad (17)$$

ergibt, gehe man zu einem ξ_1, ξ_2 -System über. Es ergibt sich dann aus (13) und (16)

$$T_0^2 > T^2 = \frac{\xi_1^2}{a^2} + \frac{\xi_2^2}{b^2}, \quad (18)$$

wobei

$$a^2 = (1 - r^2) / \left\{ N(N-1) \left(\frac{\cos^2 \varphi}{c_{11}} + \frac{\sin^2 \varphi}{c_{22}} - \frac{c_{12} \sin 2\varphi}{c_{11} c_{22}} \right) \right\}, \quad (19)$$

$$b^2 = (1 - r^2) / \left\{ N(N-1) \left(\frac{\sin^2 \varphi}{c_{11}} + \frac{\cos^2 \varphi}{c_{22}} + \frac{c_{12} \sin 2\varphi}{c_{11} c_{22}} \right) \right\} \quad (20)$$

sind. Es sei nun eine Arbeitsvorschrift gegeben, die darin besteht, eine Stichprobe zu erheben und T^2 , φ , a^2 und b^2 zu bestimmen und zu behaupten, daß m im Innern der durch diese Größen gekennzeichneten Ellipse liegt, die im x_1, x_2 -System den Mittelpunkt \bar{x} und die Halbachsen aT_0 und bT_0 hat, wobei die Halbachse der Länge aT_0 mit der x_1 -Achse den Winkel φ bildet. Wegen (16) und (18) liegt $\bar{x} = (\bar{x}_1, \bar{x}_2)$ mit der Wahrscheinlichkeit α in der für jede Stichprobe erhaltenen Ellipse mit Mittelpunkt m . Nehmen wir nun eine Parallelverschiebung der Ellipse derart vor, daß ihr Mittelpunkt \bar{x} wird und bezeichnen wir die x_1 - und x_2 -Achse als m_1 - bzw. m_2 -Achse, so liegt im vorliegenden Falle der Ellipse m mit der Wahrscheinlichkeit α im Innern der so konstruierten Ellipse, die — dies sei nachdrücklich betont — sich von Fall zu Fall ändert. Wir können daher wieder sagen, daß die Wahrscheinlichkeit eines richtigen Schlusses α ist, wenn wir annehmen, daß m im Innern der so konstruierten Ellipse liegt. Unser Konfidenzbereich enthält also die Punkte, die im Innern dieser Ellipse liegen.

Tabelle 1.

x_1	x_2
11.4	9.4
13.6	10.0
13.6	10.9
11.7	8.7
12.8	9.2
13.2	10.2
12.5	10.3
13.4	9.9
13.2	10.6
13.4	10.7
128.8	99.9

Tabelle 2.

x_1	x_1^2	x_2	x_2^2	$x_1 x_2$
1.4	1.96	-0.6	0.36	-0.84
3.6	12.96	0.0	0.00	0.00
3.6	12.96	0.9	0.81	3.24
1.7	2.89	-1.3	1.69	-2.21
2.8	7.84	-0.8	0.64	-2.24
3.2	10.24	0.2	0.04	0.64
2.5	6.25	0.3	0.09	0.75
3.4	11.56	-0.1	0.01	-0.34
3.2	10.24	0.6	0.36	1.92
3.4	11.56	0.7	0.49	3.38
28.8	88.46	-0.1	4.49	3.30

Beispiel. Als Beispiel dienen Messungen der Blattlänge (x_1) und -breite (x_2) von 10 Blättern der Trochodendracee *Euptelea davidiana* BILL. Die Werte, gemessen in Zentimetern, sind in Tabelle 1 dargestellt. Aus den Summen 128.8 und 99.9 ergeben sich nach (11) die arithmetischen Mittel $\bar{x}_1 = 12.88$ cm, $\bar{x}_2 = 9.99$ cm. Die Berechnung der Quadrat- und Produktschummen läßt sich vereinfachen, wenn man von den Meßwerten eine konstante Zahl abzieht, in diesem Falle etwa 10.0. Die c_{11}, c_{12}, c_{22} ändern ihren Wert dann nicht, man muß aber statt $x_1 = 12.88$, $x_2 = 9.99$ als arithmetische Mittel $\bar{x}_1 = 2.88$, $\bar{x}_2 = -0.01$ verwenden. Die

so reduzierten Werte sind in Tabelle 2 dargestellt, ebenso die Quadrate x_{1j}^2 und x_{2j}^2 und Produkte $x_{1j}x_{2j}$. Wir erhalten nach (12) sofort $c_{11} = 88.46 - 10 \times 2.88^2 = 88.46 - 82.944 = 5.516$, $c_{22} = 4.49 - 10 \times (-0.01)^2 = 4.49 - 0.001 = 4.489$, $c_{12} = 3.30 - 10 \times 2.88 \times (-0.01) = 3.30 + 0.288 = 3.588$. Weiter ist nach (14)

$$r^2 = \frac{3.588^2}{5.516 \times 4.489} = 0.520.$$

Wir erhalten ferner nach (17)

$$\operatorname{tg} 2\varphi = \frac{2 \times 3.588}{5.516 - 4.489} = 6.987.$$

Aus einer trigonometrischen Tafel folgt $2\varphi = 82^\circ$, $\varphi = 41^\circ$. Wir erhalten aus der Tafel dann $\sin \varphi = 0.6561$, $\cos \varphi = 0.7547$ und $\sin 2\varphi = 0.9903$ und nach (19) und (20) $a^2 = 0.0958$,

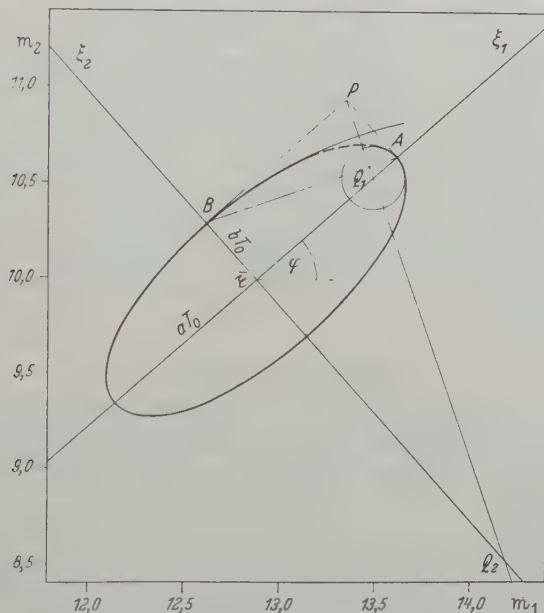


Abb. 1. Konstruktion der Ellipse.

$b^2 = 0.0164$. Um die Länge der Halbachsen, aT_0 und bT_0 zu erhalten, multiplizieren wir die erhaltenen Werte mit T_0^2 für $\alpha = 0.95$ und $\nu = 9$ Freiheitsgrade (Tabelle 3). Wir erhalten $T_0^2 = 10.033$ und $aT_0 = 0.980$, $bT_0 = 0.406$. Die Konstruktion der Ellipse ist in Abb. 1 angegeben. Wir gehen von einem rechtwinkligen m_1 , m_2 -Koordinatensystem aus und zeichnen den Punkt $\bar{x} = (12.88, 9.99)$ ein. Durch \bar{x} legen wir nun die ξ_1 - und ξ_2 -Achse derart, daß die ξ_1 -Achse mit der m_1 -Achse einen Winkel $\varphi = 41^\circ$ bildet. Nun trägt man vom Nullpunkt dieses Systems aus auf der ξ_1 -Achse nach rechts und links die Länge $aT_0 = 0.980$ und auf der ξ_2 -Achse nach oben und unten die Länge $bT_0 = 0.406$ ab. Zur Konstruktion der Ellipse gibt es verschiedene Methoden, die den Lehrbüchern entnommen werden können (z. B. Bor. 1948). Hier sei eine einfache Approximation verwendet: Man lege durch die Punkte A und B Parallele zur ξ_1 - und ξ_2 -Achse, die sich in P schneiden, verbinde A und B durch die Diagonale und fälle von P aus das Lot auf die Strecke AB, das man bis zum Schnitt mit der ξ_1 - und ξ_2 -Achse verlängert. Die Kreise mit Radien Q_2B bzw. Q_1A um Q_2 und Q_1 schmiegen sich der Ellipse weitgehend an (Scheitelkreise). Man zeichnet sie, verbindet sie mit einem Kurvenlineale und ergänzt die übrigen Teile der Ellipse symmetrisch.

Projizieren wir die Ellipse auf die m_1 - bzw. m_2 -Achse, so erhalten wir eine Strecke, deren Länge größer ist als die des Konfidenzintervalles im Falle eines einzelnen Parameters. Man erhält das der Projektion entsprechende Intervall,

indem man für $x_{1j} = x_j$ und $m_1 = m$ in (9) t_0 durch T_0 ersetzt; das gleiche gilt auch für x_{2j} und m_2 . Es ist also, da $T_0 > t_0$ ist, unzumutbar, im eindimensionalen Falle der STUDENTschen t -Verteilung die Ellipse zu konstruieren, wohingegen sie im zweidimensionalen Falle den besten Konfidenzbereich liefert.

Tabelle 3. Werte von T^2 für $\alpha = 0.95$ und $\alpha = 0.99$.

γ	$\alpha = 0.95$	$\alpha = 0.99$	γ	$\alpha = 0.95$	$\alpha = 0.99$
2	798.000	19998.000	19	7.504	12.694
3	57.000	297.000	20	7.415	12.476
4	25.472	82.177	21	7.335	12.283
5	17.361	45.000	22	7.264	12.111
6	13.887	31.859	23	7.200	11.958
7	12.001	25.491	24	7.142	11.820
8	10.828	21.821	25	7.089	11.695
9	10.033	19.461	26	7.041	11.581
10	9.459	17.826	27	6.997	11.478
11	9.026	16.631	28	6.957	11.383
12	8.690	15.722	29	6.919	11.296
13	8.418	15.008	30	6.885	11.215
14	8.197	14.433	40	6.642	10.655
15	8.012	13.961	60	6.413	10.137
16	7.841	13.566	120	6.197	9.656
17	7.722	13.231	∞	5.991	9.210
18	7.606	12.943			

Zusammenfassung.

An einfachen Beispielen wird der Konfidenzschluß erklärt. Für den Erwartungswert eines Schwerpunktes, dessen Koordinaten eine Normalverteilung haben, wird ein Konfidenzbereich durch Verwendung von HOTELLINGS T -Test angegeben.

Die vorliegende Arbeit wurde unter teilweiser Verwendung einer Dissertation der naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. geschrieben. Ich danke Herrn Prof. F. OEHLKERS für die Förderung der Arbeit und Fräulein Dr. M. SCHANZ für Hilfe bei der Berechnung von Tabelle 3, außerdem den Herren Prof. K. PATAU und Prof. H. RICHTER für wertvolle Ratschläge.

Literatur.

BOL, G.: Elemente der analytischen Geometrie, Teil I. Göttingen: Vandenhoeck u. Ruprecht 1948. — FISHER, R. A., and F. YATES: Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. Edinburgh: Oliver & Boyd 1949. — HOTELLING, H.: The generalization of 'STUDENT's' ratio. Ann. Math. Statist **2**, 359—378 (1931). — KENDALL, M. G.: The Advanced Theory of Statistics, Bd. 2. London: Griffin & Co. 1951.

Dr. PETER IHM, Freiburg i. Br., Botanisches Institut.

Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich.

*POLIERT (POL), EINE NEUE AUGENMUTANTE IM 4. CHROMOSOM
BEI DROSOPHILA MELANOGASTER MEIG.*

Von

J. RICKENBACHER.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Oktober 1953.)

Im Januar 1952 trat bei *D. melanogaster* im Wildstamm Zürich unseres Institutes spontan eine Augenmutante auf. Wie Vorversuche von Prof. E. HADORN gezeigt haben, vererbt sie sich einfach rezessiv und autosomal. Die Vitalität ist nicht beeinträchtigt. Die Mutante hat sich bis heute durch zahlreiche Generationen unverändert erhalten. Die Penetranz beträgt 100%.

Wie zahlreiche Auskreuzungen mit markierten Chromosomen beweisen, liegt das mutierte Gen im 4. Chromosom. Eine genauere Lokalisation war uns nicht möglich. Unter 5461 geprüften Gameten befand sich nur 1 Crossover zwischen dem *pol*-Locus und dem *ci^D*-Locus. Hirnquetschpräparate zeigten, daß beide 4. Chromosomen vorhanden sind¹.

Phänotypische Auswirkung.

Das auffälligste Merkmal der neuen Mutante sind glänzende Augen. Sie erscheinen wie von einem Zuckerguß überzogen, häufig wie auf Hochglanz poliert. Die Augenfarbe ist normal. Auch chromatographisch (Methode HADORN und MITCHELL 1951) konnten wir keinen Unterschied gegenüber der Augenfarbe des Wildtyps feststellen. Bei den meisten Fliegen findet man jedoch dunklere Flecken von verschiedener Größe, vor allem im zentralen Teil des Auges.

Die Augen sind deutlich kleiner als normal. Von einer Facettenzeichnung ist auf der Augenoberfläche nichts zu sehen. Die Haare können vorhanden sein, oder in größerer Ausdehnung fehlen; immer sind sie jedoch völlig unregelmäßig angeordnet (Abb. 1). Häufig ist die Augenoberfläche nicht gleichmäßig gekrümmt, sondern gewellt.

Seziert man einen Kopf unter der Binokularlupe, so findet man unmittelbar hinter der Basalmembran der Augen einen Anhang des Gehirns, aus welchem gelblichgefärbte, fingerförmige Fortsätze hervorragen. Dieser Anhang haftet fest am Gehirn. Er läßt sich jedoch sehr leicht vom Auge lösen, da er ihm nur anzuliegen scheint.

Die Expressivität des Gens ist bei niedriger Temperatur etwas kleiner als bei höherer. Bei 18° gezüchtete Tiere weisen matt glänzende Augen auf, bei

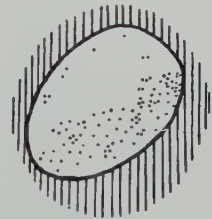


Abb. 1. Die Verteilung der Haare auf der Augenoberfläche bei *pol*.
1 Punkt = 1 Haar.

¹ Nach einer uns freundlicherweise von Prof. F. B. LEWIS, Pasadena, zur Verfügung gestellten Information, die sich auf Auskreuzung mit der Translokation T (2:4)b stützt, muß der *pol*-Locus distal von der Region 102C liegen.

denen ab und zu noch einzelne Facetten erkannt werden können. Werden die Fliegen bei 25 oder gar 28° gezüchtet, so erscheinen ihre Augen ausgesprochen poliert. Wir wählen daher für die Mutante die Genbezeichnung *poliert* (Symbol: *pol 4-?*). Bei hoher Temperatur werden auch immer weniger Haare ausgebildet. Die Augenfarbe erscheint zudem etwas heller.

Das histologische Bild.

Die direkte Ursache der Glanzaugen läßt sich auf einem histologischen Schnitt rasch erkennen. Die Oberfläche der Augen ist vollkommen glatt. Nur selten sind vereinzelte Corneallinsen ausgebildet (Abb. 2). Sonst sind die Schnittbilder

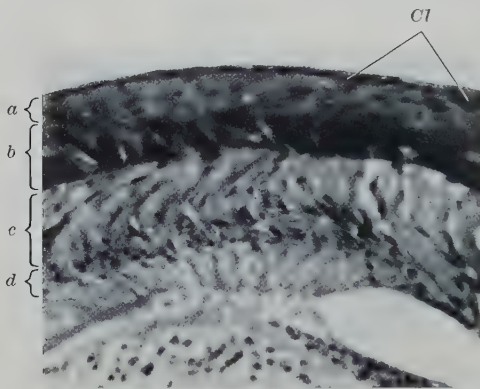


Abb. 2. Schnitt durch ein Auge einer frisch-geschlüpften Imago. Hämalaunfärbung. Vergr. 590mal. Bezeichnung der einzelnen Abschnitte s. Text. Cl Corneallinsen.

nicht leicht zu deuten. Direkt auf die glatte Chitinoberfläche folgt eine schmale Schicht zusammengedrückter Zellen ohne Pigment (*a* in Abb. 2). Hierauf schließt eine Pigmentschicht von wechselnder Breite an, die nach innen scharf, nach außen unscharf begrenzt ist (*b*). Die Pigmentschicht erscheint homogen; einzelne Zellen sind darin nur schwer zu erkennen. Stellenweise ist das Pigment zu größeren Klumpen zusammengepreßt, die ziemlich nahe an die Oberfläche reichen können. Diese Klumpen dürften den dunkleren Flecken entsprechen, die man auf der Augenoberfläche feststellt.

An einigen Stellen wird diese Pigmentschicht durchbrochen von Gebilden, in denen man Retinulazellen vermuten könnte. Sie sind jedoch plumper als normale Retinulazellen und reichen in eine hinter dem Pigment liegende Schicht hinein, die aus wirr durcheinandergelagerten, groben Fasern zu bestehen scheint und dem oben beschriebenen gelblichen Hirnanhang entspricht (*c* in Abb. 2). Erst hinter dieser Fasermasse findet man die Ganglienzellschicht des äußeren Augenganglions (= äußere Körnerschicht nach HERTWECK 1931) (*d*).

Die Entwicklung.

Der abnorme Aufbau dieser Augen kann nur verstanden werden, wenn man ihre verschiedenen Entwicklungsstadien untersucht.

Die normale Augenentwicklung bei *Drosophila* wurde von KRAFKA (1924), PILKINGTON (1941) und STEINBERG (1941, 1943) eingehend untersucht. Schon bei jungen Larven läßt sich eine Dreischichtung der normalen Augenseibe feststellen. Aus der äußeren Schicht entwickeln sich die primären Pigmentzellen, die mittlere liefert die Conus- und Retinulazellen, während die innere, aus mehreren Zellreihen bestehende Schicht die sekundären und basalen Pigmentzellen und die Basalmembran liefert. Bei verpuppungsreifen Larven sind die Zellen der mittleren Schicht zwischen diejenigen der äußeren Schicht eingetreten, und zwar derart, daß immer eine Zelle der mittleren Schicht von zweien

der äußeren umfaßt wird. Auf diese Weise tritt eine Gruppenbildung zutage, die bereits den späteren Ommatidien entspricht. Diese Gruppen können bei der Vorpuppe ohne weiteres festgestellt werden (Abb. 3a). In diesem Stadium laufen in der mittleren Schicht die Mitosen ab, die notwendig sind, um aus der einen Zelle in jeder Gruppe die normale Zahl der Conus- und Retinulazellen hervorzubringen. 24 Std später sind die Augenscheiben ausgestülpt. Die Ommatidien sind in Säulen angeordnet. Sie zeigen noch keine großen Unterschiede gegenüber dem vorhergehenden Stadium. Die späteren Retinulazellen können in der mittleren Schicht an ihrem großen Kern und an einer verstärkten Basophilie des Zytoplasmas erkannt werden (Abb. 3b).

Bis zu diesem Zeitpunkt verläuft die Entwicklung der Mutante *pol* normal.

Am 2. Tag nach der Verpuppung findet bei den Wildtieren eine beträchtliche flächenmäßige Ausdehnung der Augenscheibe statt. Gleichzeitig nimmt jedoch ihre Dicke durch Verkürzung vor allem der Retinulazellen auf ungefähr die Hälfte ab. Die Ommatidien stellen nun kugelige Gebilde dar (Abb. 3c).

In diesem Zeitpunkt treten bei unserer Mutante die morphologisch faßbaren Störungen auf. Die Flächenausdehnung scheint normal vor sich zu gehen. Die Dickenabnahme ist jedoch etwas geringer. Gleichzeitig zerfällt die Augenscheibe in 2 Teile. Während nämlich die Retinulazellen in den vorhergehenden Stadien noch in der mittleren Schicht der Augenscheibe zu finden waren, treten sie nun aus dem normalen Verband nach innen aus. Sie bilden eine eigene, deutlich von der übrigen Anlage getrennte Schicht. Nur wenige bleiben an normaler Stelle liegen; einzelne findet man in der hinteren Schicht der Augenscheibe (Abb. 3e).

Am 3. Tag nach der Verpuppung haben sich im normalen Auge die Ommatidien stark gestreckt. Die sekundären Pigmentzellen sind aus der inneren Schicht gegen die Augenoberfläche gewandert. Ihre Fortsätze stehen mit denjenigen der basalen Pigmentzellen in Verbindung. Beide sind bereits mit Pigmentkörnern beladen. Die Rhabdomeren sind ausgebildet. Die Pseudokonuszellen, umgeben von den primären Pigmentzellen, beginnen Flüssigkeit zu sezernieren. Dadurch werden die Korneae nach außen vorgewölbt. Die Haare an der Augenoberfläche sind ausgebildet. Die Basalmembran wird nur von Nervenfasern durchbrochen (Abb. 3d).

Auch bei *pol* findet in diesem Zeitpunkt ein starkes Längenwachstum der Ommatidienelemente statt. Da jedoch 2 stark wachsende Schichten hintereinander liegen, behindern sie sich gegenseitig. Besonders die Retinulazellen werden zusammengestaucht und nach allen Richtungen verkrümmt, da keine Ausweichmöglichkeit besteht. Die sekundären Pigmentzellen bilden ebenfalls schon Pigment aus. Ihre Verlagerung gegen die Augenoberfläche ist jedoch verzögert. Überall dort, wo keine Retinulazellen mehr am richtigen Ort zurückgeblieben sind, bleibt diese Verlagerung ganz aus und die sekundären Pigmentzellen bleiben an der Basis liegen. Die Basalmembran wird an zahlreichen Stellen von Retinulazellen durchsetzt. Dort, wo mehrere Retinulazellen eines Ommatidiums am richtigen Ort liegen geblieben sind, kommt es auch zur Ausbildung eines Pseudokonus. Die Sekretion der Konuszellen scheint jedoch nicht genügend zu sein, denn die Korneae sind nicht wie bei normalen Augen prall gespannt, sondern weisen Falten auf (Abb. 3f, 4b).

An jenen Stellen, an welchen keine oder nur eine Retinulazelle im normalen Verband zurückgeblieben ist, sind die Korneae völlig flach und nicht vorgewölbt.

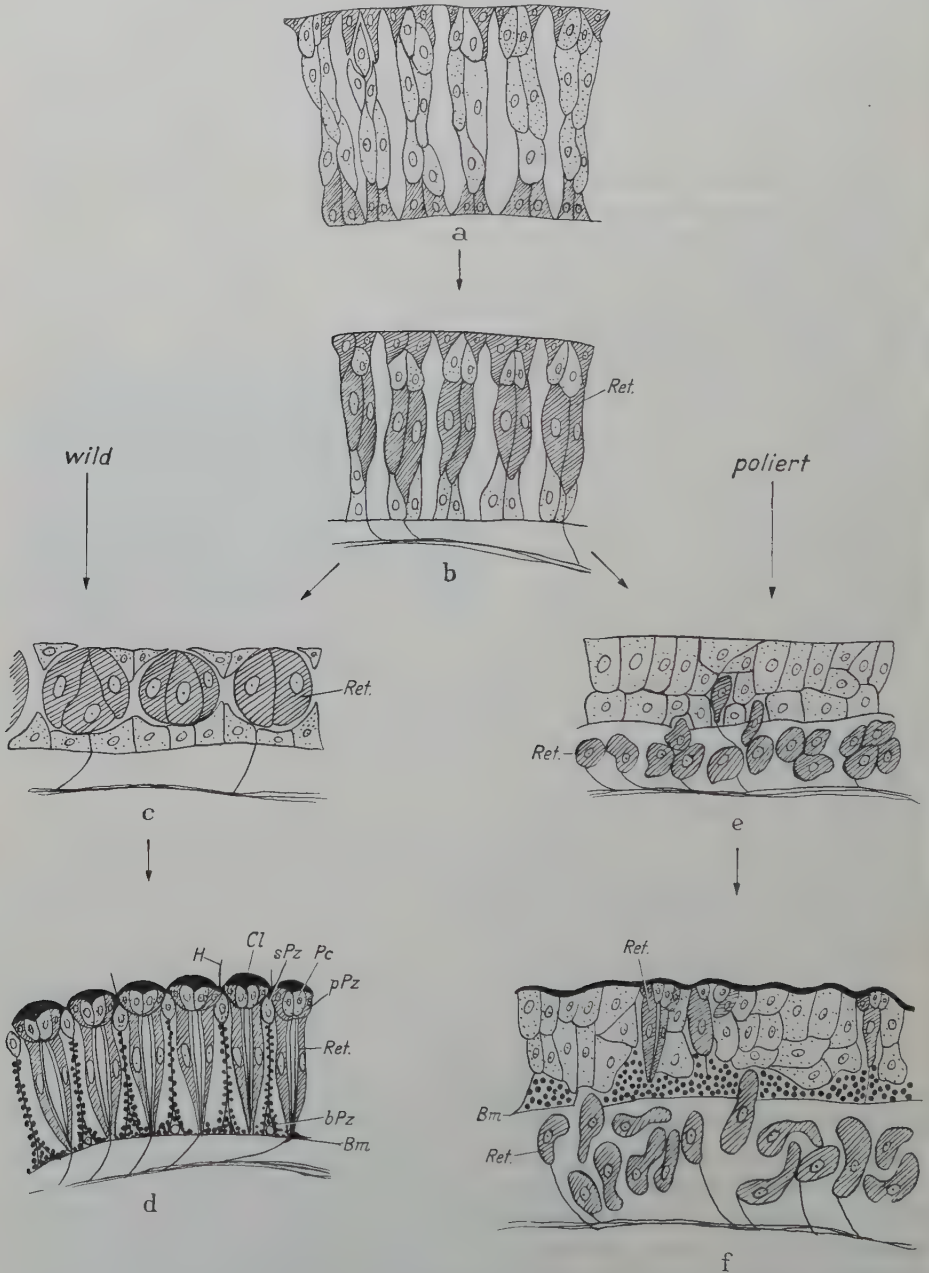


Abb. 3a—f. a—d Entwicklung des normalen Drosophila-Auges. a, b, e und f Augenentwicklung der Mutante *pol*. a Vorpuppenstadium; b 1 Tag nach Verpuppung; c und e 2 Tage nach Verpuppung; d und f 3 Tage nach Verpuppung. *Bm* Basalmembran; *Cl* Cornealinse; *H* Oberflächenhaare; *bPz* basale Pigmentzellen; *pPz* primäre Pigmentzellen; *sPz* sekundäre Pigmentzellen; *Pc* Pseudoconuszellen; *Ret* Retinulazellen. Schraffiert: Zellen mit starker Basophilie; fein punktiert: Zellen mit mäßiger Basophilie; grobe Punktierung : Pigment.

Einen Pseudokonius findet man nicht ausgebildet, obwohl die nötigen Zellen dafür vorhanden sind. Die Zellen der äußeren Augenpartie sind jedoch nur schwer oder gar nicht zu diagnostizieren. Gegen die Basalmembran zu liegen die zusammengeballten sekundären und basalen Pigmentzellen. Die Bezirke der einzelnen Ommatidien können nicht mehr gegeneinander abgegrenzt werden.

Am 4. Tag nach der Verpuppung hat das normale Auge seine endgültige Ausbildung erreicht. Die Kornealinsen weisen nach außen eine konvexe, nach innen

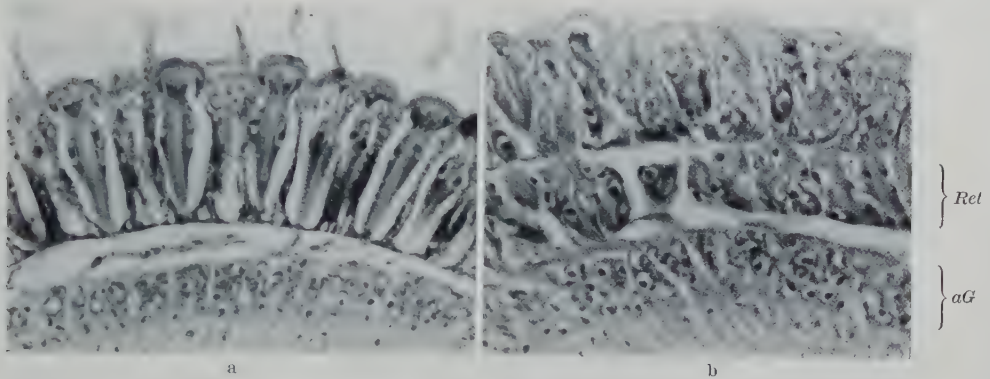


Abb. 4 a u. b. Auge 3 Tage nach Verpuppung. a wild; b *pol*. Ret Retinulazellen; aG äußeres Augenganglion Hämalaun-Eosin. Vergr. 500 \times .

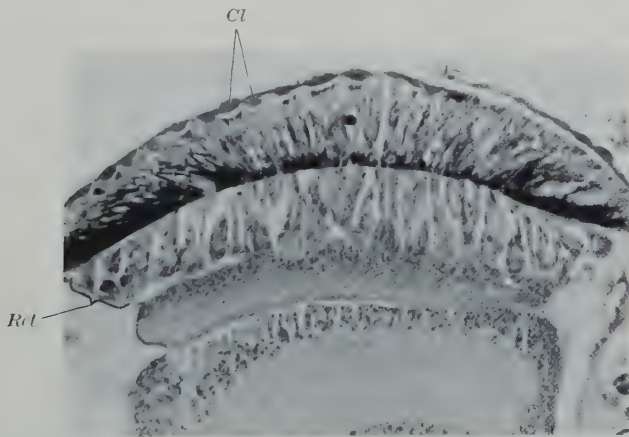


Abb. 5. Auge der Mutante *pol* 4 Tage nach der Verpuppung bei mäßiger Expressivität. Hämalaun-Eosin. Vergr. 250 \times . Cl Cornealinse; Ret Retinulazellen.

2 konkave Flächen auf. Bei *pol* können bei verminderter Expressivität relativ viele solcher Linsen ausgebildet sein, wie Abb. 5 zeigt. Sie sind jedoch nicht normal geformt, sondern sind sowohl nach außen, wie nach innen konvex. Abb. 2 zeigt das Auge einer frischgeschlüpften Imago bei starker Expressivität. Die Oberfläche ist hier vollkommen glatt. Nur in der rechten Bildhälfte sieht man 2 Kornealinsen, die nach außen beinahe plan, nach innen aber stark konvex sind. Zudem sind hier die verschiedenen Schichten noch weiter stark zusammengepreßt worden, so daß darin die einzelnen Elemente nur noch mit Mühe erkannt werden können. Aus dem Vorhergehenden ergibt sich nun aber klar, daß es

sich bei der hinter dem Pigment liegenden „Fasermasse“ um Retinulazellen handelt.

Der Einfluß des genetischen Milieus.

Kombiniert man *pol* mit *spa*^{Cat}, so daß Tiere mit der Formel $\frac{pol}{+ spa^{Cat}}$ entstehen, so zeigen diese Tiere eine Verstärkung des Katarakteffektes. Dieser erfaßt nicht nur das hintere Drittel des Auges, sondern die Hälfte oder $\frac{2}{3}$. Das Auge ist in diesem Bezirk nicht rauh, sondern glänzend wie $\frac{pol}{pol}$. Das vordere Drittel glänzt nicht; es ist wie bei $\frac{spa^{Cat}}{+}$ ausgebildet mit deutlicher Facettenzeichnung. Histologisch zeigt der hintere Augenabschnitt den Aspekt von *pol*, der vordere denjenigen von *spa*.

Die Kombination $\frac{pol}{+ spa}$ zeigt Augen vom Wildtyp. Wir sind daher nicht überzeugt, daß *pol* ein Allel von *spa*^{Cat} ist, da es dann eigentlich auch mit *spa* einen Effekt zeigen müßte. Wir glauben eher, daß es sich lediglich um einen Verstärker dieses Gens handelt.

Ist *pol* homozygot in einem Genom vorhanden, in welchem auch *Glued* vorkommt, also $\frac{Gl}{+}; \frac{pol}{pol}$, so ergibt sich eine beträchtliche Verstärkung der Expressivität von *pol*, welches *Gl* völlig überdeckt. Die Augenoberfläche ist spiegelglatt und zeigt nicht mehr die geringste Unregelmäßigkeit. In den Schnittserien findet man nur noch höchst selten eine Retinulazelle am normalen Ort; sozusagen alle liegen hinter der Basalmembran. *Gl* allein zeigt vor allem Verschmelzungen von Ommatidien. Aber auch hier scheinen die Retinulae die Basalmembran zu durchbrechen. Die postretinale Fasermasse ist deutlich größer als bei einem normalen Auge. Auch ist die Distanz von der Augenoberfläche bis zur Basalmembran verkürzt. Niemals findet man aber bei *Gl* ganze Retinulazellen hinter der Basalmembran.

Besprechung der Befunde.

Die Mutante *pol* bewirkt ein Austreten der Retinulazellen aus dem normalen Verband der Augenanlage am 2. Tag nach der Verpuppung. Damit sind Störungen in der Ausbildung der Pseudoconi und der Kornealinsen, teilweise auch der Oberflächenhaare verbunden. Wegen der glatten Oberfläche glänzen die Augen. Zudem sind die Augen kleiner als normal, da ein Teil der Elemente hintereinander anstatt nebeneinander liegt.

Es war uns nicht möglich, genauer zu ermitteln, wie dieses Austreten der Retinulazellen aus der Augenanlage zustande kommt. Es bestehen verschiedene Möglichkeiten für eine solche Wirkung.

1. Die Retinulazellen könnten mechanisch aus der Augenscheibe herausgerissen werden durch ein Zurückbleiben des Gehirns im Wachstum gegenüber dem übrigen Kopf. Wir haben keinerlei Anhaltspunkte für diese Möglichkeit gefunden. Insbesondere ist das Gehirn in Größe und Organisation vollkommen normal entwickelt.

2. Es könnte eine negative Affinität zwischen den Retinulazellen und den übrigen Elementen der Ommatidien auftreten.

3. Normalerweise findet am 2. Tag nach der Verpuppung eine starke Flächenausbreitung der Augenanlage mit gleichzeitiger Verkürzung der Einzelelemente statt. Dieser Vorgang könnte bei *pol* gestört sein. Eine übertriebene oder zu rasch erfolgende Flächenausdehnung müßte zu einer Lockerung der Zellverbände führen. Zusammen mit einer nicht synchron, sondern etwas verspätet erfolgenden Verkürzung der Retinulae wäre damit die Möglichkeit eines Herausgleitens dieser Zellen aus der Augenanlage gegeben. Die Retinulazellen sind in diesem Stadium bereits durch Nervenfasern an das äußere Augenganglion fixiert und können eine Ausbreitung und damit verbundene stärkere Krümmung der Augenanlage nicht beliebig weit mitmachen.

Bei den Mutanten *spa*, *spa^{cat}* und *Gl* scheint ein ähnlicher Mechanismus vorzuliegen. Nur ist die Wirkung weniger intensiv als bei *pol*. Auch hier durchbricht ein Teil der Retinulazellen die Basalmembran; es treten jedoch nie die ganzen Zellen aus dem Auge aus; deshalb sind die Störungen an der Oberfläche in diesen Fällen auch geringer.

Für die normale Ausbildung des lichtbrechenden Apparates scheint die Anwesenheit eines vollständigen Rhabdoms notwendig zu sein. Fehlt dieses ganz, so ist das vorhandene Material nicht imstande, einen Pseudokonus und eine Kornealinsse zu bilden. Fallen nur einzelne Rhabdomeren aus, so wird zwar ein Pseudokonus ausgebildet. Er ist jedoch viel flacher als normal. Auch sind die Kornealinsen in diesem Fall abnorm gestaltet. An Stelle der beiden Konkavitäten weisen sie nach innen eine konvexe Fläche auf. Offenbar hängt die Tiefe des Pseudokonus, sowie die Gestalt der Kornealinsen vom Druck ab, welcher im Pseudokonus herrscht. Dieser wiederum ist abhängig von der Sekretion der Konuszellen. Möglicherweise vermittelt das Rhabdom den Konuszellen einen Reiz, welcher die Sekretion in Gang bringt. Dieser Reiz und damit die Sekretion wären dann vermindert oder ganz aufgehoben, wenn einzelne oder alle Rhabdomeren fehlen.

MAURI beschrieb 1945 eine Mutante *or (oculi rugosissimi)* die ebenfalls im 4. Chromosom lokalisiert war. Sie zeichnete sich durch Buckelbildung der Augen, Verschmelzung der Oberfläche mehrerer Ommatidien, was zu spiegelnden Flecken führte, sowie durch Unregelmäßigkeiten in der Anordnung der Ommatidien aus. Die Penetranz wurde von der Autorin mit 60% angegeben. Als einzigen mikroskopischen Befund beschrieb sie die unregelmäßige Anordnung der Ommatidien in ihrer ganzen Länge. Abbildungen sind der Publikation keine beigegeben. Zudem ist der Stamm laut einer Mitteilung von BARIGOZZI (1945) später eingegangen. Es war uns daher nicht möglich, zu prüfen, ob es sich bei *pol* um ein Allel von *or* handelt.

Zusammenfassung.

Es wird über eine neue Mutation „*poliert*“ = *pol* im 4. Chromosom bei *Drosophila melanogaster* berichtet. Sie bewirkt glänzende Augen und wird einfach rezessiv vererbt. Die Penetranz beträgt 100%.

Ursache der Glanzaugen ist ein Herausgleiten der Retinulazellen aus der Augenanlage am 2. Tag nach der Verpuppung. Dadurch kommt es zu Störungen in der Ausbildung der Pseudoconi und der Kornealinsen, so daß die Augenoberfläche vollkommen glatt ist.

Herrn Prof. E. HADORN danke ich für die Überlassung des Materials und seine wohlwollende Unterstützung meiner Arbeit. Der Aufmerksamkeit von Frl. Z. BLANKART, welche beim routinemäßigen Umsetzen der Stämme die Mutante entdeckte, gebührt besondere Anerkennung. Herr Prof. F. B. LEWIS, Pasadena, war so freundlich, uns Vergleichsstämme zur Verfügung zu stellen.

Literatur.

BARIGOZZI, C.: *Drosophila* Information Service **19**, 45 (1945). — HADORN, E., and H. K. MITCHELL: Properties of mutants of *Drosophila melanogaster* and changes during development as revealed by paper chromatographie. Proc. Nat. Acad. Sci. **37**, 650 (1951). — HERTWECK, H.: Anatomie und Variabilität des Nervensystems und der Sinnesorgane von *Drosophila melanogaster* MEIG. Z. wiss. Zool. **139**, 559 (1931). — KRAFKA, J.: Development of the compound eye of *Drosophila melanogaster* and its bar-eyed mutant. Biol. Bull. **47**, 143 (1924). — MAURI, C.: Occhi rugosissimi, una nuova mutazione dell' occhio di *Drosophila melanogaster* MEIG. Atti Soc. ital. Sci. natur. **84**, 18 (1945). — PILKINGTON, R. W.: Facet mutants of *Drosophila*. Proc. Zool. Soc. Lond. **111**, 199 (1941). — STEINBERG, A. G.: A reconsideration of the mode of development of the bar eye of *Drosophila melanogaster*. Genetics **26**, 326 (1941). — The development of the wild type and bar eyes of *Drosophila melanogaster*. Canad. J. Res. **21**, 277 (1943).

Dr. med. J. RICKENBACHER, Anatomisches Institut der Universität Zürich,
Gloriastr. 19.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Voldagsen.

ASYNAPSIS UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE GENOMANALYSE*.

Von

HORST GAUL.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Juli 1953.)

Die „klassische“ Methode der Genomanalyse wie sie KIHARA u. a. in den 20er Jahren entwickelten, wird zumeist noch heute, im wesentlichen unverändert, angewendet. Sie besteht vor allem darin, daß man die in Metaphase I (M_I) beobachtete Anzahl der gepaarten Chromosomen direkt als die Anzahl von homologen, bzw. partiell homologen Chromosomen betrachtet.

Inzwischen ist mehrfach vor einer zu starren Anwendung dieser Methode, besonders auch bei Polyploiden, gewarnt worden (SEARS 1948). In der Tat erscheint es notwendig, die klassische genomanalytische Methode auszubauen. Die folgenden Ausführungen stellen einen solchen Versuch dar.

Meist wurden, besonders in den früheren Arbeiten, in einer bestimmten Kombination von Art- oder Gattungsbastarden nur eine oder wenige F_1 -Bastardpflanzen untersucht. Beobachtungen von anderen Autoren an Bastardpflanzen der gleichen Kombination, die aber nicht von den gleichen Elternpflanzen abstammten, zeigten häufig recht unterschiedliche Paarungsergebnisse. Man war oft geneigt, diese Unterschiede in erster Linie auf den Einfluß der Umwelt (Temperatur, Feuchtigkeit usw.) zurückzuführen, aber grundlegende Untersuchungen zu dieser Frage sind bisher nur in zu geringem Umfang durchgeführt worden. Im folgenden werden solche allgemein aufzufindenden Widersprüche nur an dem Beispiel der intergenomatischen Paarung der Weizengenome A, B, D ausführlich zusammengestellt. Angesichts dieser Variabilität der Paarung, die für Art- und Gattungsbastarde sowohl von Zelle zu Zelle als auch von Pflanze zu Pflanze bzw. Fixierung zu Fixierung kennzeichnend ist, entsteht die Frage, welcher der vielen beobachteten, unterschiedlichen Paarungswerte für die genomanalytischen Folgerungen gelten soll.

Diese Frage wird in dieser Arbeit für das Modellbeispiel von *Triticum* \times *Agropyrum intermedium* (GAUL 1953a) vorläufig gelöst, und es wird die Hypothese der prinzipiellen, universellen Gültigkeit der entwickelten Methode aufgestellt.

Durch ihre ungewöhnlich große, metaphasische Paarungsvariabilität, die in einer soeben erschienenen Arbeit beschrieben worden ist (GAUL 1953a), sind diese Bastarde für eine solche Untersuchung besonders geeignet. Bei *Triticum aestivum* \times *A. intermedium* wurden z. B. F_1 -Bastardpflanzen gefunden, bei denen man durchschnittlich etwa 2 Chiasmen je Zelle zählt, und solche, bei denen man etwa 20 Chiasmen findet. Umfangreiche Untersuchungen (an 40 perennierenden

* Teil einer Dissertation.

Bastardpflanzen, die zum Teil bis zu 4mal unter verschiedenen, zum Teil kontrollierten Umweltbedingungen fixiert und mit jeweils 50 PMZ ausgezählt wurden) zeigten hier eine Reihe der Chiasmenfrequenzen mit allen Übergängen zwischen den beiden Extremwerten, und bei einer Vergrößerung des Untersuchungsmaterials muß damit gerechnet werden, daß Pflanzen mit noch größeren Paarungswerten als bisher gefunden werden. Diese Paarungsvariabilität wird von einer genischen Variabilität der Bastardpflanzen begleitet, da *Agropyrum intermedium* als Fremdbestäuber stark heterozygot ist.

Es konnte nun ein signifikanter Umwelteinfluß auf den Paarungsumfang der M_I sichergestellt werden. Aber es wurde auch eindeutig gezeigt, daß dieser gegenüber dem genotypischen Einfluß recht unbedeutend war (etwa 15—20% gegenüber 1000%).

Die starke Asynapsis dieser Bastarde ließ die folgende Diskussion im Rahmen eines eingehenden Literaturüberblickes über dieses Problem wünschenswert erscheinen. Unter anderem wird auch gezeigt werden, daß die Asynapsis der Weizen-Queckenbastarde zumindest nicht im wesentlichen durch Strukturheterozygotie erklärt werden kann, sondern genisch bedingt sein muß.

Im Rahmen der Darstellung der Genetik, des Ablaufes und der Ursachen genisch kontrollierter Asynapsis wird an geeigneter Stelle (S. 83—92) die Bedeutung dieses Problems für die genomanalytischen Methoden geschildert werden. Die älteren Arbeiten begnügen sich zur Feststellung der Anzahl (partiell) homologer Chromosomen bei Art- und Gattungsbastarden im allgemeinen mit der Auszählung der Bi- und Multivalente in M_I , ohne die Chiasmenfrequenz näher zu betrachten. SEARS (1941 b, S. 17) wies darauf hin, daß die durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle, ein klareres Bild der Chromosomenhomologien geben könnte. Die Chiasmenfrequenz unterliegt jedoch genetischer und ökologischer Kontrolle und ihre alleinige Verwendung kann deshalb das Zufallsmoment des zufällig untersuchten Musters nicht ausschalten. Die *Beziehung von durchschnittlicher Chiasmenanzahl und Bi- + Multivalentenzahl* (bzw. *Anzahl gebundener Chromosomen*) je Zelle zeigt dagegen offensichtlich eine strenge Gesetzmäßigkeit, die zu einem relativ homogenen Kurvenverlauf führt (GAUL 1953 a, Abb. 1). Diese Gesetzmäßigkeit der Verteilung der Chiasmen auf die Chromosomenarme ermöglicht es auf einer mathematischen Grundlage die Anzahl der tatsächlich paarungsfähigen [= (partiell) homologen] Chromosomen zu errechnen, die oft jenseits der in der Zufallsprobe realisierten liegen wird.

Für den Leser, der sich nur für dieses genomanalytische Problem und nicht für das der Asynapsis interessiert, wird wohl das Lesen der S. 83—92 ausreichend sein.

1. Problemüberblick; Genetik der Asynapsis.

Die Literatur der Asynapsis¹ hat in den letzten Jahren ein großes Volumen eingenommen. Es kann folgende Einteilung der Faktoren, die Einfluß auf die Chiasmenreduktion haben, vorgenommen werden:

¹ Der Terminus Asynapsis wird in dieser Arbeit nur auf den Paarungsausfall in M_I bezogen, unabhängig von den prophasischen Verhältnissen. Eine kurze Diskussion hierüber folgt später.

1. Chiasmenreduktion durch Umwelteinflüsse: a) Temperatur, b) Wassergehalt des Bodens und der Luft, c) Röntgenstrahlen, d) Chemikalien, e) Sonstiges.
2. Chiasmenreduktion durch den Genotypus:
 - a) genomatisch bedingt.
 - aa) Strukturheterozygotie
 - bb) Polyploidie
 - b) genisch bedingt (= spezifische Genwirkung)

Apomikten, Art- und Gattungsbastarde

Aneuploide.

In diesem Schema sollen die Pfeile die Faktoren darstellen, die bei Apomikten, Art- und Gattungsbastarden und Aneuploiden die Asynapsis bewirken. Diese Übersicht ist der folgenden Darstellung im wesentlichen zugrunde gelegt und wird entsprechend erläutert werden.

Ein Fall, bei dem sich mit Sicherheit der Einfluß des Plasmons nachweisen läßt, ist mir nicht bekannt, obwohl in Zukunft damit gerechnet werden muß. Dagegen ist die Bedeutung des Plastoms (Plastidoms) für die Chiasmenfrequenz sichergestellt (OEHLKERS 1937, ZÜRN 1937a und b, 1939).

Es kann als sicher gelten, daß bei der Asynapsis der *Triticum* × *A. intermedium*-Bastarde der entscheidende Einfluß genotypisch ist, der Umweltfaktor scheidet daher weitgehend aus der Diskussion aus. Das gleiche gilt für die umfangreiche Literatur der Apomikten.

Wenn *Strukturheterozygotie* als Faktor, der die Asynapsis bei *Triticum* × *A. intermedium* auslöst, angenommen wird, so würde dies bedeuten, daß bei unterschiedlicher durchschnittlicher Paarung der verschiedenen Bastardpflanzen verschiedene Grade der Genomdifferenzierung der im Bastard vereinigten Genome bestehen, d. h. eine verschieden starke Homologie. Als wesentliches Moment kann dies aus 2 Gründen nicht in Frage kommen. (1) Die F_1 ist hierfür zu wenig morphologisch differenziert. Eingehende morphologische Studien zeigen, daß die geringen Unterschiede zwischen verschiedenen Pflanzen kaum die Annahme einer derartigen Differenzierung der Chromosomen rechtfertigen, die für die Paarung von (a) durchschnittlich 2 Bindungen¹ und (b) durchschnittlich 14 Bindungen notwendig wäre. (2) Entscheidend ist das folgende. F_1 -Geschwisterpflanzen, die also von denselben Elternpflanzen stammen, zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen fixiert wurden, weisen Unterschiede bis zu 8 Bindungen auf (GAUL 1953a, Tabelle 10 K 68/1 und K 68/3 u. a.). Es ist nicht vorstellbar, daß die von einem *Agropyrum*-Elter stammenden Gameten derartige strukturverschiedene Chromosomengarnituren besitzen.

Tetraploide haben gegenüber *Diploiden* meist eine reduzierte Chiasmenfrequenz. UPCOTT (1939, s. dort weitere Literatur) stellt eine Reihe von Diploiden den entsprechenden Auto- oder Allotetraploiden gegenüber: *Raphano-Brassica*, *Solanum lycopersicum*, *Primula kewensis*, *Primula sinensis*, *Kniphofia Nelsonii*, *Allium Schoenophrasum*, *Campanula persicifolia*, *Allium pulchellum* × *carinatum*. CHIN (1946, s. dort weitere Literatur) setzt die Reihe fort: *Secale cereale*, *Sorghum vulgare*, *Hordeum vulgare*, *Tradescantia virginia*, *Brassica oleracea*. Diese Tetraploiden zeigen gegenüber den Diploiden eine Verminderung der Chiasmenanzahl pro Chromosom mit Reduktionsfaktoren, die zwischen 0,76 und 0,97 liegen. Die Reihe läßt sich durch weitere Untersuchungen an Gerste von PETO (1936b) und ROSENDAHL (1943/44) ergänzen, aus deren Arbeiten die Reduktionsfaktoren 0,94 bzw. 0,87 entnommen werden können. Neuerdings fanden BELL und SACHS (1953) bei 18 induzierten Amphidiploiden des *Triticum-Aegilops*-Formenkreises

¹ Der Terminus „Bindung“ ist nach KIHARA (in GAUL 1953a, S. 506, Fußnote) definiert.

Reduktionsfaktoren, die zwischen 0,70 und 0,95 lagen. Diese Chiasmenreduktion kann nach DARLINGTON (1940) und UPCOTT (1939) dadurch erklärt werden, (a) daß die Chromosomen als Folge ihrer zahlenmäßigen Verdopplung und der Paarungskonkurrenz von jeweils 4 homologen Chromosomen längere Zeit zum Paaren brauchen. Da aber die Anlagerungszeit begrenzt ist (time limit) bleibt die Paarung unvollständig. Weiterhin können (b) die so verzögerten Chromosomen nur ein geringeres „relational coiling“ entwickeln, der Torsionsdruck für die Chiasmenbildung wird zu gering.

Bei *Trisomen*, *Tetrasomen* usw. sowie bei *polyploiden Bastarden* bei denen viele homologe Segmente in der Paarung konkurrieren (Multivalentbildung bei *Triticum* \times *A. intermedium*), ist eine ähnliche Chiasmenreduktion zu erwarten. Dieser Faktor sowie die starke *Strukturheterozygotie* bei *Triticum* \times *A. intermedium*, welche durch die komplizierte Paarung ebenfalls verzögernd auf den Anlagerungsvorgang wirkt (DARLINGTON 1937, 1940, DARLINGTON und LA COUR 1940), müßte sich aber bei verschiedenen Bastardgeschwisterpflanzen stets annähernd gleich auswirken.

Es ist deshalb berechtigt, als Ursache für die gefundene Asynapsis echte Genwirkungen anzunehmen.

Eine Klassifizierung der in der Literatur berichteten *genisch bedingten asynaptischen Fälle* (Tabelle 1) wird solange unzureichend sein, wie die Erklärungsversuche hypothetischen Charakter haben. PRAKKEN (1943) trifft eine Einteilung in „intensity series“, d. h. in (a) schwache, (b) mittelstarke und (c) vollständige Asynapsis, entsprechend der Häufigkeit von Univalenten (und Chiasmen) in der M_I . Meist wurden aber früher nur eine oder wenige Pflanzen untersucht, und es wird heute deutlich, daß überall dort, wo eine größere Zahl von Individuen untersucht wurde, sich zwischen diesen auch beträchtliche Unterschiede der Paarungsintensität finden, die genetischer Natur sind. So untersuchte BEADLE (1933) bei Mais ($2n=20$) 8 Pflanzen und fand bei der Pflanze mit geringster Paarung durchschnittlich $0,3_{II}$ ($0-2$) je Zelle, bei der mit höchster Paarung durchschnittlich $8,2_{II}$ ($5-10$). Noch deutlicher werden die Verhältnisse in dem großen Zahlenmaterial bei *Triticum aestivum* von LI et al. (1945). Hier finden sich praktisch alle Übergänge von vollständiger Asynapsis bis zu fast normaler Paarung. LAMM (1936) fand in seinem Roggenmaterial schwache Asynapsis, PRAKKEN (1943) mittelstarke, beide Autoren von Pflanze zu Pflanze nicht unbeträchtliche Unterschiede. JOHNSON (1944) fand bei *Alopecurus myosuroides* ($2n=14$) Typen, die auf etwa 500 PMZ in M_I nur 1 Stab-II hatten, bei einer Pflanze jedoch „1–6 bivalents not infrequently occur“ (S. 488), obwohl auch hier die Mehrheit der Zellen keine Paarung zeigte. Schließlich beobachtete er häufig Typen, die nur partielle Asynapsis zeigten (bis zu 10_I je Zelle). Bei *Rumex Acetosa* wurde starke Asynapsis gefunden, bei *Rumex angiocarpus* nur schwache (Literatur s. Tabelle 1). In der eigenen Untersuchung der *Triticum*-Bastarde wurde eine kontinuierliche Reihe von etwa 2–14 Bindungen aufgedeckt. Diese umschließt alle widersprechenden Ergebnisse bisheriger Autoren (GAUL 1953a, Tabelle 1). Nichts steht also einstweilen der Annahme entgegen, daß sich stets alle Übergänge von vollständigem Paarungsausfall in M_I bis zu vollständiger Paarung finden lassen, wenn nur eine ausreichende genetische Breite erfaßt wird.

Weiterhin konnte in allen Fällen, in denen bei *reinen Arten* eine *Faktorenanalyse* der Asynapsis durchgeführt wurde, gezeigt oder wahrscheinlich gemacht

Tabelle 1. Fälle, bei denen genisch bedingte Asynapsis gezeigt oder wahrscheinlich gemacht werden konnte¹.

1. Reine Arten

a) Keine (oder nahezu keine) Paarung im Pachytän

<i>Rumex Acetosa</i> ♂	YAMAMOTO 1934
<i>Hevea brasiliensis</i>	RAMAER 1935
<i>Hyoscyamus niger</i>	VAARAMA 1950
<i>Alopecurus myosuroides</i>	JOHNSSON 1944
(im Diplotän nahezu ungepaart)	

b) Variabele Pachytänpaarung

<i>Lycopersicum esculentum</i>	SOOST 1951
<i>Zea mays</i>	BEADLE u. MCCLINTOCK 1928; BEADLE 1930, 1933
<i>Triticum aestivum</i>	LI, PAO u. LI 1945
<i>Picea abies</i>	ANDERSSON 1947

c) Vollständige (oder nahezu vollständige) Pachytänpaarung

<i>Crepis capillaris</i> (X-Stamm)	RICHARDSON 1935; HOLLINGSHEAD 1930
<i>Allium amplexans</i> (3n)	LEVAN 1940
<i>Secale cereale</i>	PRAKKEN 1943
<i>Ulmus glabra</i>	EKLUNDH-EHRENBURG 1949

d) Lagemäßige Zuordnung² von Univalenten in M_I oder späte Prophasen-trennung von Bivalenten beobachtet

<i>Pisum sativum</i>	KOLLER 1938
<i>Matricaria inodora</i>	VAARAMA 1950

e) Nur Diakinese und/oder M_I beobachtet

<i>Matthiola incana</i>	LESLEY u. FROST 1927, PHILP u. HUSKINS 1931, ARMSTRONG u. HUSKINS 1934
<i>Hordeum distichum</i>	EKSTRAND 1932
<i>Sorghum spec.</i>	HUSKINS u. SMITH 1934
<i>Paeonia spec.</i>	HICKS u. STEBBINS 1934
<i>Primula malacoides</i>	KATTERMANN 1935a
<i>Datura stramonium</i>	BERGNER, CARTLEDGE u. BLAKESLEE 1935; BLAKESLEE u. AVERY 1934
<i>Secale cereale</i>	LAMM 1936
<i>Alopecurus myosuroides</i> (schwache Asynapsis)	JOHNSSON 1944

¹ Folgende Literatur über Asynapsis wurde nicht berücksichtigt, da sie nicht im Original eingesehen werden konnte:

<i>Nicotiana sylvestris</i>	GOODSPEED u. AVERY: J. Genet. 38, 382 (1939). Zit. bei PRAKKEN 1943.
<i>Oenothera</i>	CATCHESIDE: New Phytologist 38, 323 (1939). Zit. bei LI, PAO u. LI 1945.
<i>Capsicum annuum</i>	PAL u. RAMANUJAM: Current Sci. 9, 126 (1940). Zit. bei SOOST 1951.
<i>Avena</i>	HUSKINS et al. 1940, Collecting Net 15, 170 (Abs.). Zit. bei AASE 1946
<i>Alopecurus spec. Alopecurus utriculatus</i> × <i>myosuroides</i>	JOHNSSON 1941, Lunds Univ. Arsskr. N. F., Abt. 2, 37, 3, 1. Zit. bei PRAKKEN 1943 u. JOHNSSON 1944.
<i>Rumex acetosa</i> ♂	LÖVE: Nature (Lond.) 152, 358 (1943). Zit. bei BERGMANN 1952.
<i>Phleum</i>	NORDENSKIÖLD: Acta Agr. Suecana 1, 1. (1945). Zit. bei EKLUNDH-EHRENBURG 1949.
<i>Nicandra physaloides</i>	DARLINGTON u. AMMAL: Ann. of Bot. N. S. 9, 267 (1945). Zit. bei VAARAMA 1950.
<i>Triton</i>	BÖÖK: Hereditas (Lund) 31, 177. (1945). Zit. bei VAARAMA 1950.
<i>Triticum</i>	CÂMARA: Rev. Agron. Lisboa 34, 375 (1946). — Plant Breeding Abstr. S. 20.

² „juxtaposition“.

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

<i>Rumex angiocarpus</i>	LÖVE 1944
<i>Chrysanthemum carinatum</i> (2n, 3n und 4n, nur ♀ asynaptisch)	BERGMANN 1952
<i>Scilla sibirica</i> (in Verbindung mit Chromosomen-Brüchen)	REES 1952
2. Bastarde	
b) <i>Gossypium hirsutum</i> × <i>barbadense</i> F ₂	BEASLEY u. BROWN 1942
d) <i>Triticum aestivum</i> × <i>Agropyrum inter- medium</i> F ₁	GAUL 1953a
e) <i>Crepis capillaris</i> (X-Stamm) × <i>tecto- rum</i> F ₁	HOLLINGSHEAD 1930
<i>Pygaera pigra</i> × <i>curtula</i> und reziprok F ₁ (Asynapsis nur in Spermatog- enese)	FEDERLEY 1931
<i>Nicotiana tabacum</i> (intraspec. Bast.) F ₂	CLAUSEN 1931
<i>Triticum durum</i> × <i>aestivum</i> F ₄	SAPEHIN 1933
<i>Drosophila pseudoobscura</i> (intraspec. Bast.) F ₁	DOBZHANSKY 1934
<i>Festuca</i> × <i>Lolium</i> spec. (Rückkreuzg. und Selbstg.)	PETO 1934
<i>Triticum monococcum</i> × <i>aegiloides</i> F ₂	SMITH, L. 1936a, b
<i>Triticum aestivum</i> × <i>Agropyrum inter- medium</i> F ₁	PETO 1936a; THOMPSON u. GRAFIUS 1950;
<i>Triticum dicoccum</i> et <i>aestivum</i> × <i>Agropyrum elongatum</i> F ₁	PETO 1936a; GAUL (unveröffentlicht)
<i>Oenothera Hookeri</i> (mit Co-Faktor von <i>biennis</i> oder <i>suaveolens</i>)	OEHLKERS 1937
<i>Aegilops umbellulata</i> × <i>Haynaldia villosa</i> — Amphidiploid	SEARS 1941b
2n <i>Aegilops</i> × 2n <i>Aegilops</i> spec.—Am- phidiploide	SEARS 1941b
4n u. 2n <i>Triticum</i> × 4n u. 2n <i>Aegilops</i> (bzw. <i>Haynaldia villosa</i>) spec.—Am- phidiploide	McFADDEN u. SEARS 1947; BELL u. SACHS 1953
4n <i>Triticum</i> × <i>Agropyrum trichopho- rum</i> — Amphidiploide	POPE 1950; BELL u. SACHS 1953
4n <i>Triticum</i> × 4n <i>Triticum</i> spec.— Amphidiploide	BELL u. SACHS 1953
3. Aneuploide	
b) <i>Avena sativa</i> (6n—2)	HUSKINS 1927, 1928; HUSKINS u. HEARNE 1933
d) <i>Zea mays</i> (2n + 5)	McCLINTOCK 1929
e) <i>Nicotiana alata</i> (2n + 1)	AVERY 1929
<i>Primula kewensis</i> (4n—2)	NEWTON u. PELLEW 1929
<i>Viola Orphanides</i> (nur ♂ asynaptisch)	CLAUSEN 1930
<i>Avena sativa</i> (6n—2)	NISHIYAMA 1931, 1933, 1935
<i>Triticum aestivum</i> (6n—2)	HUSKINS u. HEARNE 1933; SEARS 1941a, 1944, 1948
<i>Godetia Whitneyi</i> (2n—2 und kompli- ziertere Verhältnisse)	HÄKANSSON 1943, 1945 (zum Teil lagemäßige Zuordnung in MI, S. 132).

werden, daß es sich nur um ein einfach mendelndes, rezessives Gen handelt. Dies ist der Fall bei *Lycopersicum*, *Zea*, *Triticum aestivum*, *Secale* (PRAKKEN), *Matthiola*, *Hordeum*, *Datura*, *Nicotiana tabacum* (Literatur s. Tabelle 1), ferner bei *Nicotiana silvestris* (GOODSPEED und AVERY 1939, zit. bei PRAKKEN 1943) und *Alopecurus myosuroides* (JOHNSSON 1941, zit. bei PRAKKEN 1943). Da dieser eine Faktor aber nicht die Unterschiede zwischen verschiedenen Pflanzen erklären kann, werden von verschiedenen Autoren zusätzliche Modifikatoren vermutet (BEADLE

1933, LAMM 1936, LI et al. 1945, BEASLEY und BROWN 1942, zusätzlich zu den 2 rezessiven Faktoren bei *Gossypium*-Hybriden). Neuerdings konnte Soost (1951) bei 5 Mutanten von *Lycopersicum esculentum* zeigen, daß die Asynapsis hier an 5 unterschiedliche, rezessive Gene gebunden ist, die unabhängig und nicht allelisch sind. Bei *Triticum aestivum* (LI et al. 1945) wurden Typen gefunden (a) deren Paarungsumfang von unterschiedlicher Temperatur relativ wenig beeinflußbar war und (b) solche, die sich ausgesprochen instabil und temperaturabhängig zeigten.

In Tabelle 1 sind nur Fälle mit ausgesprochener Asynapsis zusammengestellt. Seit DARLINGTON (1930) die erblichen Ursachen der unterschiedlichen Chiasmenfrequenz zwischen verschiedenen Klonen von *Fritillaria* wahrscheinlich machen konnte, sind viele solcher Fälle bekannt geworden, bei denen nur *schwächere Unterschiede der Chiasmenhäufigkeit* beobachtet wurden. Sie leiten direkt über zu solchen mit mehr oder weniger großer Univalentbildung, d. h. Asynapsis. So wurden genetische Unterschiede in der Chiasmenfrequenz wahrscheinlich gemacht oder nachgewiesen bei *Tradescantia* (SAX 1935), *Lycopersicum esculentum* (UPCOTT 1935, dort weitere Literatur), *Pisum sativum* (KOLLER 1938, dort weitere Literatur), *Lolium perenne* (MYERS 1941), *Dactylis glomerata* (MYERS 1943), *Triticum aestivum* (THOMPSON 1928, HOLLINGSHEAD 1932, VOM BERG 1935, MYERS und POWERS 1938, LOVE 1951). Wo bei Fremdbestäubern Inzucht angewendet wird, tritt eine Aufspaltung in Typen mit unterschiedlichen Chiasmenfrequenzen ein, so bei *Alopecurus myosuroides* (JOHNSON 1944) und *Secale cereale* [LAMM 1936, KAKHIDZE 1939, LEVAN 1942 (diploides Gewebe von haploidem Roggen), PRAKKEN 1943]. Umgekehrt wurde bei *Oenothera Hookeri* \times *Oe. franciscana* neben heterotischer Wüchsigkeit auch eine größere Chiasmenfrequenz als in beiden Eltern gefunden (HASELWARTHER 1937, LINNERT 1948). Diese „Paarungsheterosis“ war bei den entsprechenden Tetraploiden noch gesteigert (LINNERT 1948).

Offensichtlich wird also die Chiasmenfrequenz durch eine Vielzahl von selbständigen und/oder unselbständigen Genen gesteuert, die alle Übergänge von total asynaptischen Typen bis zu solchen mit maximaler Chiasmenfrequenz auslösen können.

Die Asynapsis bei *Pflanzen mit zusätzlichen Chromosomen* (Tabelle 1) kann zweierlei Ursachen haben, die Polyploidiewirkung (s. oben) und nicht ausbalancierte bzw. spezifische Genwirkung (s. Übersicht S. 71). Da viele Trisome keine Asynapsis zeigen (TAKAGI 1935, PRAKKEN 1942 u. a.), scheint dem genischen Faktor der Haupteffekt zuzukommen. Ebenso ist die Asynapsis bei den Nullisomen von *Avena* und *Triticum* nur an das Fehlen spezifischer Chromosomen gebunden, bei deren Rückkehr wieder Synapsis eintritt. Auf dem C-Chromosom und dem Chromosom III liegen hier offenbar die Faktoren für Asynapsis (Literatur s. Tabelle 1).

Es verbleibt die genetische Erklärung der *Asynapsis von Bastarden* (Tabelle 1). PETO (1936a) erhielt bei *Festuca* \times *Lolium*-Hybriden, die in F_1 regelmäßig oder fast regelmäßig paaren (7_{II}), nach Rückkreuzungen, die zum Teil noch geselbstet wurden, eindrucksvolle Aufspaltungen in viele Typen mit unterschiedlicher Chiasmenfrequenz. DOBZHANSKY (1934) vermutet, daß es sich bei den asynaptischen Bastarden von *Drosophila pseudoobscura* um eine Serie von komplementären Faktoren handelt, die von beiden Eltern geliefert werden. Es erscheint nicht unberechtigt, komplementäre Genwirkung auch für die *Gossypium*-Hybriden

(BEASLEY und BROWN 1942) und für *Triticum monococcum* \times *aegilopoides* (L. SMITH 1936a, b) anzunehmen. In beiden Fällen wurde wahrscheinlich gemacht, daß es sich um je 2 rezessive, homozygote Gene handelt. Vermutlich liegen die Verhältnisse bei *Oenothera* (OEHLKERS 1937) ähnlich. Bringt man aus der *Oe. biennis* oder *suaveolens* den Faktor *Co* (kleine Blüten) in das (homozygote) *Oe. Hookeri*-System, so tritt in *Coco Hookeri* Chiasmenreduktion gegenüber *coco Hookeri* ein. Der *Co*-Faktor wirkt hier aber homozygot und heterozygot.

Bei *Triticum aestivum* \times *A. intermedium* wurde eine genbedingte Paarungsbegrenzung erstmalig von PETO (1936a) vermutet, wobei dieser allerdings maximal nur 7_{II} annimmt. THOMPSON und GRAFIUS (1950) schreiben: „From a large number of observations it was concluded that progressive desynapsis occurred . . .“ (S. 300). POPE (1950) fand bei 4n *Triticum* \times *A. trichophorum*-Amphidiploiden (2n = 70) nur gelegentlich vollständige Paarung, meist nicht unbeträchtliche Asynapsis. Diese war in der Nachkommenschaft der Amphidiploiden noch ausgeprägter. „The most likely explanation for failure of complete meiotic pairing in the amphidiploid was thought to be physiological disturbances caused by interaction between genes of *Triticum* and *Agropyrum* which controlled the same cell processes.“ Bei den Bastarden von POPE handelt es sich offenbar um das gleiche Material, das LOVE und SUNESON (1945) erstmalig beschrieben haben. Diese erhielten bei *T. durum* \times *A. trichophorum* unkontrollierten Ansatz. Zwei der Nachkommen hatten 2n = 70 und bildeten nur durchschnittlich 17,22_{II} und 21,88_{II}. Es erscheint heute berechtigt, für die Entstehung dieser Pflanzen den einfachsten Fall anzunehmen, die Befruchtung unreduzierter Gameten.

Über die faktorielle Grundlage der Asynapsis bei *Triticum* \times *A. intermedium* kann keine sichere Aussage gemacht werden. *Triticum* ist allopoloid und selbstbestäubend, *A. intermedium* ist ein potentiell Auto-Allopoloider und typischer Fremdbestäuber. Es ist offensichtlich, daß bei beiden der normale Ablauf der Meiosis auf stark unterschiedlicher genetischer Basis ausbalanciert ist. Eine sichere Beziehung zwischen dem Grad der Paarungsreduktion in F₁ und dem Grad der Verhinderung von Quadrivalenten des entsprechenden *intermedium*-Elters konnte nicht gefunden werden. Von den 40 untersuchten F₁-Pflanzen (GAUL 1953a, Tabelle 10) stammen 15 (K 12/—, K 13/—, K 14/—) von den beiden *A. intermedium*-Geschwisterpflanzen 114/11 und 114/13. Diese F₁-Pflanzen gehören durchweg zu der Gruppe mit starker und mittelstarker Asynapsis, und die *intermedium*-Eltern gehören zu den Pflanzen mit geringster Quadrivalentbildung (GAUL 1953a, Tabelle 4). Auf der anderen Seite hat aber *A. intermedium* 105/20 die stärkste Multivalentbildung. Zwei der Kreuzungsnachkommen wurden untersucht, sie hatten 2,0 und 9,9 Bindungen.

Mit Gewißheit kann angenommen werden, daß an der Paarungsreduktion viele Gene beteiligt sind, da die Unterschiede zwischen den Pflanzen im wesentlichen nicht ökologisch induziert sind. Folgende Erklärungen sind möglich. (1) Viele rezessive Gene werden in F₁ als Folge der partiellen Genomhomologien kein alleles Partnergenen haben. Trifft dies auch für Faktoren zu, welche die Chiasmenfrequenz reduzieren, so kommt hier ihr Effekt dem der vollständigen Inzucht (s. oben) gleich, mit dem Unterschied, daß sie, wie bei Hapliden, nur in einfacher „Dosis“ vorhanden sind. (2) Die Asynapsis kann auf unharmonischem

Zusammenwirken von stark unterschiedlichen Genen beruhen, die den gleichen Prozeß steuern. (3) Der Paarungsausfall kann durch komplementäre Genwirkung von 2 oder mehr Faktoren entstehen, zu denen noch modifizierende Gene hinzukämen. (4) Es ist nur ein rezessives Genpaar mit entsprechenden Modifikatoren wirksam.

Fall (4) wird wohl die geringste Wahrscheinlichkeit zukommen.

Es ist nach diesem Überblick (Tabelle 1) naheliegend anzunehmen, daß bei Hybriden und zwar insbesondere Art- und Gattungsbastarden, die genisch kontrollierte Chiasmenreduktion eine größere Rolle spielt als dies oft bisher angenommen wurde. Meist wurden von solchen Bastarden nur jeweils eine oder wenige Pflanzen untersucht, und oft erhielten andere Forscher abweichende Ergebnisse, wenn sie die gleiche Kombination, aber von anderen Ausgangsrassen herstammend, prüften. Man war dann häufig geneigt, den Einfluß der Umwelt gegenüber dem von Genen für eine Erklärung zu bevorzugen. Bei *Triticum* \times *A. intermedium* wurde gerade diese Frage geprüft, und es zeigte sich zwar ein signifikanter Umwelteinfluß, aber dieser war gegenüber dem genetischen unbedeutend. Aus der Fülle der Beispiele in der Literatur, die einen genischen Einfluß auf die Paarungsbeschränkung vermuten lassen, seien hier die Weizen-Roggenbastarde erwähnt. Solche Hybriden sind bisher in F_1 über 30mal und zum Teil mit mehreren Pflanzen untersucht worden (vgl. Literaturüberblick bei LILJEFORS 1936, KIHARA 1937, KOSTOFF 1941, AASE 1946, NAKAJIMA 1952). Im allgemeinen wurde hier eine Streuungspaarung von einigen Bindungen je Zelle, die gelegentlich bis 6 oder 7 heraufgehen konnte, häufig aber etwas kleiner war, festgestellt; meistens jedoch war die Mode 0. Bei solchen *Triticum aestivum* \times *S. cereale*-Bastarden wurde dagegen als Mode der Bindungen erhalten: von KOSTOFF (1943) 1, KATTERMANN (1934) 2 und 3, LILJEFORS (1936 für *T. turgidum* \times *S. cereale*) 2, LEBEDEFF (1933) 5 (durchschnittlich 5,3) und soeben von NAKAJIMA (1952) sogar 7 (durchschnittlich 7,9, Streuung bis zu 11 Bindungen je Zelle!). Diese Paarung wird allgemein als Autosyndese des Weizens angesehen. Für die Autosyndese der Weizen Genome A, B, D können vor allem weitere Aufklärung geben die Ergebnisse der Untersuchungen an Haploiden von $2n$ *Triticum* (KIHARA und KATAYAMA 1932, 1933, KIHARA und YAMASHITA 1938, CHIZAKI 1934, KATAYAMA 1934, 1935, SMITH L. 1946), von $4n$ Weizen (KIHARA 1936) und von $6n$ *Triticum* (GAINES und AASE 1926, YAMAMOTO 1936, YAMASAKI 1935, 1936, KRISHNASWAMY 1939, KOSTOFF 1941, 1943). Die hier gefundene Paarung, vor allem der haploiden $6n$ Weizen, steht in Übereinstimmung mit den Metaphasenbeobachtungen bei den $6n$ Weizen \times *S. cereale*. Die Streuungspaarung reicht gelegentlich bis zu 6 Bindungen herauf, die Mode ist aber fast immer 0, jedoch liegen von verschiedenen Autoren unterschiedliche Ergebnisse vor. So fand KRISHNASWAMY (1939) etwas stärkere Paarung, aber nur KOSTOFF (1943) zählte bei einer Pflanze die Mode 1.

Die Kreuzung A \times D (die genomatisch einem haploiden AD-Weizen entspricht) zeigt recht unterschiedliche Ergebnisse (Tabelle 2), und erstaunlicherweise wurde maximal eine Mode von 6 Bindungen (Streuung bis 7) beobachtet, worin bis zu 4 Ring-II enthalten sein konnten. Dagegen zeigte die Kombination AB \times D, bei der man mindestens die gleiche Zahl paarungsfähiger Chromosomen erwarten sollte (wahrscheinlich aber mehr), nur nahezu vollständige Asynapsis.

Tabelle 2. Beziehungen des D-Genoms zu AB.

Kombinationen	Bindungen je PMZ		Ring-Bivalente je PMZ		Multivalente je PMZ		Autor
	Mode (M) oder Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation	Durchschnitt	Variation	
A × D	M 2	0—6		0—2		0—1 ^{III}	KIHARA u. LILJENFELD 1935
	—	1—5		0—2		0—1 ^{III}	KIHARA 1949
	M 6	2—7		—4		—1 ^{IV}	KIHARA 1949
	3,54 ¹	0—7	0,28	0—1	0,34 ^{III}	0—3 ^{III}	SEARS 1941 b
					0,02 ^{IV}	0—1 ^{IV}	
AB × D	5,22 ¹	0—6	1,58	0—4	0,20 ^{III}	0—1 ^{III}	SEARS 1941 b
					0,08 ^{IV}	0—1 ^{IV}	
	0,05 ¹	0—2	0	0	0	0	McFADDEN u. SEARS 1946
							KIHARA 1949
	M 0	0—3	0	0	—	—	

¹ Durchschnittswerte

Es ist weiterhin interessant, die Ergebnisse der Konjugation von Amphidiploid-Rückkreuzungen der Genomformel $\frac{ABD}{Sec} \frac{Sec}{Sec}$ (*Sec* = *Secale*) zu betrachten. Was hier über 7 Bindungen hinausgeht, muß auf Autosyndese des Weizens zurückzuführen sein. LEIN (1943/44) fand bei 1 von 4 untersuchten Pflanzen nur durchschnittlich 5,0_{II}, OHLENDORF (1952) dagegen durchschnittlich 8,64_{II}. Bei Haplo-Diploiden von der Genomformel $\frac{ABD}{ABD} \frac{Sec}{Sec}$ fand KATTERMANN (1934, 1935 b) extreme Paarungsvariationen und nur gelegentlich wurden die erwarteten 21_{II} gebildet, eine Pflanze hatte durchschnittlich nur 14,6_{II}.

Diese dargestellten erheblichen Unterschiede verschiedener Autoren können in erster Linie nur auf der Grundlage spezifischer Genwirkung erklärt werden. Unterschiede der Chromosomenzahlen, gewisse Strukturunterschiede und Umwelteinflüsse werden zum Teil hinzutreten. Hierdurch wird aber gleichzeitig die ganze Problematik und Unsicherheit der heutigen genomanalytischen Methoden demonstriert. Sie können nur verhältnismäßig groben Aufschluß über die Verwandtschaft zweier Genome geben und auch dies nur, wenn eine größere Zahl von genetisch unterschiedlichen Bastarden der gleichen Kombination untersucht worden ist. Trotz 30jähriger Forschungsarbeit ist die Frage nach der Zahl der homolog paarungsfähigen Chromosomen innerhalb des Weizens ungelöst.

Jedoch sind nicht alle Fälle der Bastardasynapsis genisch zu erklären. Die großen Differenzen in der Konjugation von *Allium cepa* × *fistulosum*, die von unterschiedlichen Autoren gefunden wurden, sind z. B. vermutlich in erster Linie eine Folge von Strukturunterschieden (EMSWELLER und JONES 1935, 1938, LEVAN 1936, 1941, MAEDA 1937).

2. Ablauf der Asynapsis.

Tabelle 1 stellt einen Versuch dar, die asynaptischen Fälle danach zu ordnen, ob (a) auch in der frühen Prophase vollständige Asynapsis beobachtet wird, (b) oder eine Initialpaarung stattfindet, die vor ihrer Vervollständigung unterbrochen wird, (c) oder eine normal erscheinende Paarung gefunden wird, die von der nicht-asynaptischen Kontrolle durch das Auge nicht unterschieden werden kann. Eindeutige frühe Prophasenbeobachtungen sind aber oft nicht möglich.

Die Situation wird noch dadurch erschwert, daß ungepaarte Chromosomenfäden schon den Teilungsspalt zeigen können (DARLINGTON 1937) und deshalb oft nicht leicht von den einfachen, aber gepaarten Fäden zu unterscheiden sind.

Weiter schließt Nichtpaarung im Pachytän keine Initialpaarung (oder sogar vollständige) im Zygotän aus; dies wird auch für *Hevea* von RAMAER (1935) betont. Es erscheint aber nach den vorliegenden Daten wahrscheinlich, daß weitgehend begrenzte Paarung oder absolute Nichtpaarung in der sehr frühen Prophase nicht nur durch Umwelteinflüsse (z. B. Temperatur, MATSUURA 1937) oder bei gewissen Apomikten (s. Literaturüberblick DARLINGTON 1937 sowie GUSTAFSSON 1942) auftreten kann, sondern auch bei genisch bedingter Asynapsis. Indessen findet, nach den bisherigen Prophasenbeobachtungen zu urteilen, in den meisten Fällen ein mehr oder weniger vollständiges und normales Zygotänpaaren statt. BEADLE (1933) hat bei Mais gute Anzeichen dafür, daß hier komplette Synapsis stattfindet, für *Triticum aestivum* (LI et al. 1945) wird das gleiche berichtet. Vom Pachytän ab können bei *Zea*, *Triticum* und *Picea* die Bivalente auseinanderfallen und in M_I als Univalente erscheinen. BEADLES (1933) Phot. 21 zeigt bereits im späten Zygotän Univalentfäden. Für *Lycopersicum* dagegen berichtet SOOST (1951): „Cytological examination indicates that part of the action of these asynaptic genes is to reduce the amount of initial chromosome pairing“ (S. 430). Und HUSKINS und HEARNE (1933) berichten für das Pachytän von *Avena* ($6n-2$) weitgehende Nichtpaarung, die ihre Ursache in defektem Zygotänpaaren hat. So können *Zea*, *Triticum* und *Picea* sinngemäß vielleicht besser in „c“ (Tabelle 1) eingeordnet werden, da in dieser Gruppe bei *Crepis*, *Allium* und *Secale* eine vollständig normale Prophasenpaarung gezeigt werden konnte. Die Dissoziation der Bivalente beginnt hier erst vom Diplotän ab. In dieser Gruppe kann also kein ursprünglicher Paarungsmangel (jedenfalls sichtbarer) die Ursache der metaphasischen Asynapsis sein. Zwei Erklärungen sind für diese Gruppe vor allem möglich, (1) die Chiasmenbildung selber ist reduziert oder fällt gänzlich aus, (2) frühzeitige, vollständige Terminalisation und Abstreifen der Chiasmen über die Chromosomenenden hinaus. Letzteres würde ein Aussetzen der Terminalaffinität (DARLINGTON 1937) voraussetzen und erscheint unwahrscheinlich. Keinerlei Anzeichen hierfür sind bei den Objekten gefunden worden, bei denen der vollständige Stadienlauf studiert werden konnte. Besonders *Crepis* ist für solche Beobachtungen günstig, da hier nur 3_{II} vorhanden sind, die schon von der mittleren Prophase an morphologisch unterschieden werden können. RICHARDSON (1935) schreibt zu dieser Frage: „This is improbable owing to the slight amount of terminalisation“ (S. 135).

Die metaphasische Asynapsis kann deshalb offensichtlich drei verschiedene Voraussetzungen haben (Literatur s. Tabelle 1):

1. Vollständige oder nahezu vollständige frühe Prophasenpaarung, aber Chiasmenausfall (*Crepis*, *Allium*, *Secale*, *Ulmus* und wahrscheinlich *Zea*, *Triticum*, *Picea*, *Gossypium*-Bastarde?). Dies scheint der typische Fall zu sein.

2. Beschränkte und variable Initialpaarung, die nicht oder nicht immer vervollständigt wird. Echter Chiasmenausfall (wie bei 1) kann hinzukommen [(*Lycopersicum*, *Avena* ($6n-2$)).

3. Chiasmenausfall als Folge nahezu vollständigen oder vollständigen Paarungsausfalles (*Rumex*, *Hyoscyamus*, *Hevea*?; *Alopecurus*?).

Für *Pisum*, *Matricaria*, *Zea* ($2n + 5$) und *Triticum aestivum* \times *A. intermedium* kann mit Sicherheit gesagt werden, daß sie nicht in die Gruppe 3 gehören. Ob prophasisch nur Segmente oder die Chromosomen in ihrer ganzen Länge gepaart waren, kann hier nicht entschieden werden.

LI et al. (1945) schlagen für den typischen Fall 1 den Terminus „Desynapsis“ vor. „Asynapsis“ soll nur noch benutzt werden „in those cases in which synapsis is absent during first meiotic mitosis as originally defined by RANDOLPH (1928)“. Aber RANDOLPH (S. 35) hat nur die metaphasische Asynapsis im Auge, und im allgemeinen ist dieser Terminus später auch nur in bezug auf den Paarungsausfall in M_I gebraucht worden. „Desynapsis“ mag angebracht sein in den Fällen, in denen der exakte Beweis der vollständigen Prophasenpaarung gebracht ist. In den weitaus meisten Fällen liegen aber keine oder keine ausreichenden Prophasenuntersuchungen vor. Außerdem erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß es in der Prophase alle Übergänge von vollständiger Assoziation über die Paarungsbeschränkung auf die Kontaktpunkte bis zu mehr oder weniger kompletter Nichtpaarung gibt. Es ist auch vorstellbar, daß alle diese Verhältnisse bei verschiedenen Chromosomen einer Zelle vorkommen. Schließlich haben einerseits MATSUURA (1937) sowie andererseits STRAUB (1939) und WIEBALCK (1940/41) (zeitlich also vor LI et al.) „Desynapsis“ in einem anderen Sinne gebraucht, so daß hierfür drei gänzlich verschiedene Definitionen existieren. Für die eigene, gegenwärtige Untersuchung kann der Terminus nicht angewendet werden, da die frühe Prophase nicht untersucht ist. Darüber hinaus erscheint seine allgemeine Bedeutung fraglich, solange der eigentliche Mechanismus der Asynapsis noch ungeklärt ist.

Im Zusammenhang mit dem metaphasischen Paarungsausfall sind oft 3 Beobachtungen diskutiert worden.

1. *Chromosomenkontraktion.* Bei *Matthiola incana* (Literatur s. Tabelle 1) wurde zuerst ein mendelndes Gen für die Chromosomenlänge festgestellt; der „l-Typ“ (= lange Chromosomen) zeigte gleichzeitig schwache Asynapsis. Aber auch der L-Typ (= kurze Chromosomen) war nicht frei von gewissem Paarungsausfall. Solch eine verminderte Chromosomenkontraktion könnte die Folge einer zeitlich verkürzten Prophase sein und wird von DARLINGTON (1937) als semi-mitotische Kontraktion bezeichnet. Später wurden dann in M_I lang ausgezogene und zum Teil gestreckte Chromosomen beobachtet (häufig besonders in bezug auf die Bivalente) bei *T. aestivum* (HOLLINGSHEAD 1932 und Tabelle 1), bei *Secale*, *Pisum*, *Ulmus*, *Matricaria* und den *Gossypium*-Bastarden (Tabelle 1), während in den anderen Fällen dieses nicht eintrat oder kein Augenmerk darauf gerichtet wurde. Wieder zeigt es sich, daß überall dort, wo eine größere Anzahl von Pflanzen und eine größere genetische Breite erfaßt wurden, keine klare Korrelation zwischen dem Grad der Asynapsis und dem Grad der Chromosomenkontraktion gefunden wurde. Im Gegenteil fand LAMM (1936) bei Inzuchtroggen auch bei geringer Chiasmenfrequenz Pflanzen mit normaler Chromosomenkontraktion, und PRAKKEN (1943) bestätigt die Unsicherheit dieser Beziehung. Besonders variabel ist die Chromosomenlänge auch bei *Triticum aestivum* von LI et al. (1945). HUSKINS und HEARNE (1933) fanden bei *Avena* ($6n - 2$) unregelmäßige Chromosomenkontraktion im Pachytän. JOHNSON (1944) beobachtete bei Inzuchtlinien von *Alopecurus* Typen mit sehr starker Chromosomenkontraktion, die zum Teil asynaptisch waren, andererseits fand er eine Pflanze mit ausgeprägt schwacher Kontraktion. STRAUB (1939) fand in seinen Temperaturversuchen mit *Gasteria*, daß induzierte Asynapsis meist mit starker Kontraktion der Chromosomen verbunden war, die in extremen Fällen bis zur annähernden Kugelförmigkeit gehen konnte. Aber in einem Versuch ($+5^{\circ}\text{C}$ konstant) wurden im Gegensatz hierzu die Chromosomen länger als normal beobachtet. Bei *Triticum*

× *A. intermedium* sind die Chromosomen und besonders die Bivalente fast immer gegenüber den Eltern verlängert. Obwohl häufig Pflanzen mit starkem Paarungsausfall besonders verminderte Kontraktion zeigen, sind diese Verhältnisse variabel und es kann auf keinen Fall eine klare Beziehung aufgestellt werden. — Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Asynapsis zwar oft mit verminderter Chromosomenkontraktion verbunden ist, aber diese tritt nicht zwangsläufig ein. Vereinzelt wurde sogar das Gegenteil beobachtet. Vermutlich ist die Chromosomenkontraktion zum Teil von Genen und physiologischen Bedingungen abhängig, die keinen direkten Einfluß auf die Chiasmenfrequenz haben und ist nicht zwangsläufig an den Zeitfaktor gebunden (lange oder kurze Prophase).

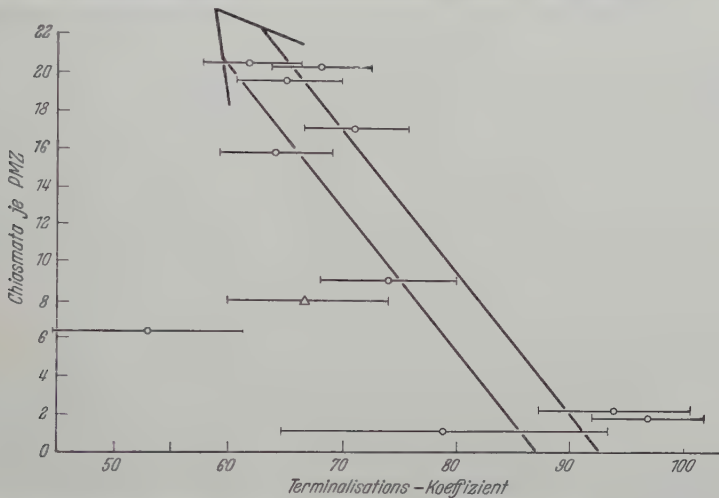


Abb. 1. Durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle und durchschnittlicher TK je Zelle (TK-Skala reicht von 0,50—1,00). ○ = *T. aestivum* × *A. intermedium*, △ = *T. durum* × *A. intermedium*. Waagerechte Striche = 3σ. — Fehlergrenze. Jeder Punkt basiert auf Auszählungen von 50 Pollen Mutterzellen. (Abb. 1 beruht auf den Zahlenangaben von Tabelle 11 und auf der Angabe in Abschnitt B, III,3 der Arbeit GAUL 1953a.)

2. *Terminalisation*. Wenn der Anlagerungsvorgang der Chromosomen zeitlich beschränkt ist, muß die Paarung auf solche Punkte begrenzt bleiben, die in der Paarung vorausgehen (DARLINGTON 1940). Dies führt zu einer Lokalisation der Chiasmen auf diese Kontaktpunkte. Deshalb sind bei Objekten mit proterminaler Paarung in M_I keine oder nur wenig interstitielle Chiasmen zu erwarten und ein größerer Prozentsatz terminalisierter Chiasmen. Dies wurde gefunden bei *Triticum* × *Aegilops* (DARLINGTON 1930), bei *Secale*, *Pisum*, *Alopecurus*, aber auch bei BEADLES Mais und bei *T. aestivum* (Tabelle 1) sind Anzeichen hierfür vorhanden.

Abb. 1 zeigt, daß auch bei *Triticum* × *A. intermedium* eine deutliche Beziehung gefunden wurde: mit abnehmender Chiasmenzahl steigt der Terminalisationskoeffizient (TK). Dieser Befund fördert die Auffassung, daß die Ursache der Asynapsis in einer zeitlichen Verkürzung des Anlagerungsvorganges liegt. Aber es gibt signifikante Abweichungen von dieser Tendenz, besonders deutlich bei Pflanze K 13/38 (GAUL 1953a, Tabelle 11, in dieser Arbeit Abb. 1). An der genauen Auszählung dieser Pflanze kann kein Zweifel bestehen, da es sich gerade hier um ein besonders gutes Präparat handelte. Auch LAMM (1936), der die

Chiasmenanzahl je Bivalent (nicht die Chiasmenanzahl je Zelle wie in der eigenen Untersuchung) in Beziehung zum TK setzt, findet eine beträchtliche Streuung. Weiterhin beobachtete KOLLER (1938) bei asynaptischem *Pisum* zwar einen deutlich vergrößerten TK gegenüber normalen Pflanzen, aber keine Beziehung innerhalb der 5 asynaptischen Pflanzen, die sich allerdings auch nicht stark in ihrer Chiasmenfrequenz voneinander unterscheiden. Für diese Abweichungen von der allgemeinen Tendenz sind 3 Erklärungen möglich. (1) Unterschiedliche Terminalisationskraft bei verschiedenen Pflanzen. Wenn man DARLINGTONS (1937) Anschauung akzeptiert, so entsteht die Terminalisation als Folge einer (a) all-

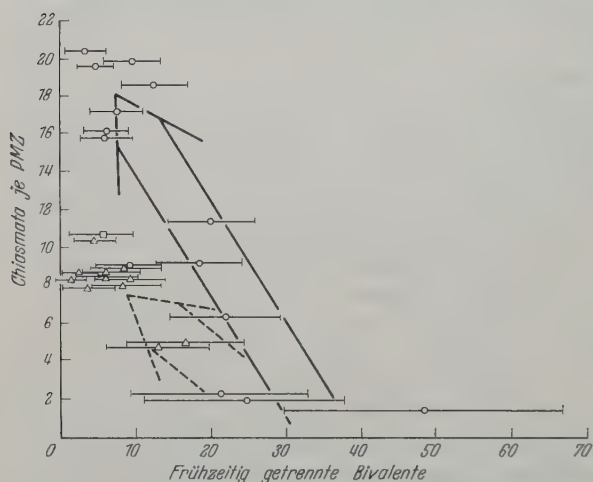


Abb. 2. Durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle und Prozentsatz F_{II} der gesamten Bivalente. \circ = *T. aestivum* \times *A. intermedium*, Δ = *T. durum* (*dicoccum*) \times *A. intermedium*, \square = *S. cereale* \times *A. intermedium*. Waagerechte Striche = 3σ -Fehlergrenze. (Abb. 1 beruht auf den Zahlenangaben von GAUL 1953a, Tabelle 9 und 11.)

gemeinen Abstoßung zwischen allen Teilen der Chromosomen („body repulsion“) und (b) einer lokalisierten, spezifischen Abstoßung der Zentromere. Abweichungen zwischen verschiedenen Pflanzen könnten als Unterschiede der elektrischen Oberflächenladung aufgefaßt werden. (2) Die begrenzte Paarung und mit ihr die terminale Chiasmenlokalisierung ist zwar die Hauptursache der Asynapsis; aber ein zweiter Faktor, vermutlich eine gelegentlich vollständige Paarung, verbunden mit echtem Chiasmenausfall, kommt in unterschiedlicher Stärke hinzu und bewirkt eine mehr zufällige Verteilung der Chiasmen entlang der gepaarten Chromosomenarme. — (3) Es handelt sich um Beobachtungsfehler. — Der dritten Erklärung wird wohl die geringste Bedeutung zukommen.

Parallelgehend mit Zu- und Abnahme der terminalisierten Chiasmen wurde bei *Triticum* \times *A. intermedium* eine Zu- und Abnahme der frühzeitig getrennten Bivalente (F_{II}) gefunden (GAUL 1953a, Tabelle 9, 11, und in dieser Arbeit Abb. 2). Solche „locker gebundenen“ Bivalente sind bei den *Triticinae*-Hybriden eine ganz allgemeine Erscheinung, selten wurden sie jedoch quantitativ statistisch erfaßt. Die Parallelität zwischen Terminalisation und frühzeitiger vollständiger Chiasmentrennung (Abb. 1, 2) gibt die Berechtigung, diese losen Bivalente als „frühzeitig getrennte“ aufzufassen und zu bezeichnen. (Die Begriffsdefinition wurde auf S. 10, GAUL 1953a gegeben). Auch MYERS (1941) fand bei *Lolium perenne* eine signifikant negative Korrelation zwischen totaler Chiasmenfrequenz und dem Prozentsatz von „loosely attached bivalents“. Wie bei dem TK zeigen sich auch bei den F_{II} signifikante Abweicher von der allgemeinen Tendenz, sowohl bei den *aestivum*-Bastarden als auch bei den *durum*(*dicoccum*)-Bastarden.

3. *Chiasmenfrequenz je Bivalent*. Von BEADLE (1933) wurde bei Mais gefunden, daß mit zunehmender durchschnittlicher Bivalentenzahl je Zelle von Pflanze zu Pflanze die durchschnittliche Chiasmenzahl je Bivalent progressiv zunimmt. Schon vorher hatten HOLLINGSHEAD (1932) und EKSTRAND (1932) für *Triticum aestivum* bzw. *Hordeum* auf eine solche Beziehung hingewiesen. PRAKKEN (1943) zeigte sie später eindrucksvoll bei Roggen, SOOST (1951) findet ein ähnliches Ergebnis für *Lycopersicum* und auch bei *Alopecurus* (JOHNSON (1944) wird die Erscheinung deutlich. Während die bisherigen Autoren eine solche Korrelation der Durchschnittswerte zwischen verschiedenen Pflanzen fanden, berichtet KOLLER (1938) für *Pisum* über die gleiche Beziehung von unterschiedlichen Zellen innerhalb einer Pflanze. PRAKKEN (1943) konnte aber für Roggen an einem relativ großen Material zeigen, daß innerhalb einer Pflanze solche Korrelation nicht besteht. Hier war vielmehr die Chiasmenanzahl je Bivalent in allen Zellen von I—VII etwa gleich groß oder gleich klein, entsprechend dem Durchschnittswert dieser Pflanze. Weiterhin weist PRAKKEN darauf hin, daß auch in dem Material von KOLLER nur eine schwache Intra-Pflanzenkorrelation vorhanden ist (wobei noch zu prüfen ist, wieweit diese statistisch gesichert ist), wenn man alle Zellen der sich nur wenig unterscheidenden 5 Pflanzen von *Pisum* zusammennimmt.

3. Gesetzmäßigkeit der Chiasmenverteilung.

Diese bisherigen Untersuchungen weisen, wie erwartet, bereits auf ein einheitliches Prinzip der Chiasmenverteilung auf alle potentiell vorhandenen Bivalente hin. Es entsteht deshalb zunächst die Frage (1) nach der Art des Verteilungsmechanismus und (2) ob bei unterschiedlichem Grad der Asynapsis auch der Verteilungsmechanismus geändert wird. Wenn man die durchschnittliche Zahl der Bivalente je Zelle mit der durchschnittlichen Chiasmenzahl je Bivalent in Beziehung setzt, wie es bisher geschehen ist, werden die Verhältnisse für diesen Zweck unnötig kompliziert. [SOOST (1951) korreliert die Chiasmenanzahl je potentielles Bivalent mit der Chiasmenanzahl je aktuelles Bivalent; PRAKKEN (1943) verwendet statt der Chiasmenanzahl je aktuelles Bivalent den Prozentsatz von Ring-II.] Ein übersichtlicherer Einblick ist zu erwarten, wenn man einfach die durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle mit der entsprechenden durchschnittlichen Bivalentenzahl je Zelle vergleicht. Wegen der Multivalentbildung bei den *Agropyrum*-Bastarden muß statt der letzteren hier exakterweise die durchschnittliche Anzahl der gebundenen Chromosomen¹ je Zelle verwendet werden. Wenn auf der Ordinate die durchschnittliche Anzahl gebundener Chromosomen je Zelle, auf der Abszisse, die der Chiasmen eingetragen wird (s. Abb. 3 und GAUL 1953a, Abb. 19), so ist die Homogenität der Kurven jeder Kreuzungskombination überraschend. Nur bei *Secale* \times *A. intermedium* ist die Streuung größer. Dies ist vermutlich die Folge der dort gefundenen extremen meiotischen Störungen (GAUL 1953b) und möglicherweise auch hiermit verbundener Auszählungsfehler. Auch muß darauf hingewiesen werden, daß hier das Problem der monohaploiden Paarung hinzukommt, da bei haploidem *Secale* nicht unbeträchtliche Paarung gefunden wurde (vgl. GAUL 1953a, C, II, 1).

¹ Gebundene Chromosomen sind alle in Bi- und Multivalenten assoziierten Chromosomen.

Im folgenden soll als Beispiel zunächst die *T. aestivum* \times *A. intermedium*-Kurve betrachtet werden, da sie am vollständigsten ist (Abb. 3). Bei kleinen

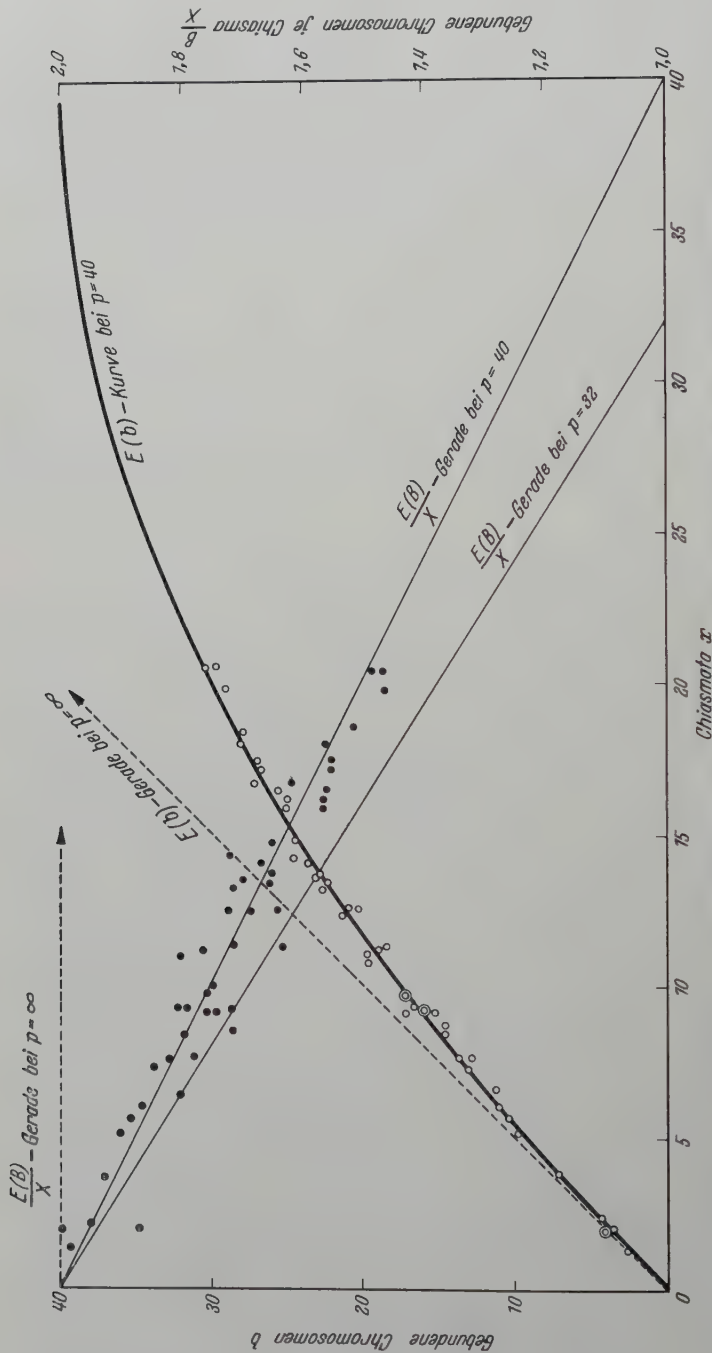


Abb. 3. *T. aestivum* \times *A. intermedium*. O = durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle x und durchschnittliche Anzahl gebundener Chromosomen je Zelle b in M_1 . ● = durchschnittliche Chiasmenanzahl je Zelle und durchschnittliche Bindungsfähigkeit jedes einzelnen Chiasmas B/X in M_1 . [Als B und X werden die gesamten Anzahlen (also die Summen) der gebundenen Chromosomen und der Chiasmen von allen ausgezählten Zellen einer Fixierung bezeichnet.] Linke Ordinatenskala b , rechte Ordinatenskala B/X . Jeder Punkt basiert auf Auszählungen von 50 PMZ einer Pflanze bzw. Fixierung. Die (dick ausgezeichnete) Kurve der gebundenen Chromosomen (Parabel) stellt die theoretische Erwartung der gebundenen Chromosomen $E(b)$ dar, wenn die Anzahl p der paarungsfähigen Chromosomen mit $p = 40$ unterstellt wird. Entsprechend wird die theoretische Erwartung von B/X durch die $E(B)/X$ -Gerade dargestellt, die in dem Punkt mit dem Abszissenwert 0 x und dem Ordinatenwert (der rechten Skala) 2,0 B/X beginnt und bei 40 x die Abszisse schneidet. Die $E(B)/X$ -Gerade von Punkt 0 x , 2,0 B/X nach Abszissenpunkt 32 x stellt die theoretische Erwartung für 4 in *Triticum* \times *A. intermedium* ($p = 32$) dar (der empirische Befund ist bei dieser Kombination nicht eingezeichnet). (Abb. 3 beruht auf Zahlenangaben von GAUL 1953 a, Tabelle 12.)

Chiasmenanzahlen je Zelle ist die Anzahl b der durchschnittlich je Zelle gebundenen Chromosomen fast doppelt so groß wie die Anzahl x der durchschnittlich

je Zelle gebildeten Chiasmen. Dies bedeutet, daß fast jedes Chiasma dazu in der Lage ist, 2 Chromosomen zu „binden“. Wäre die Zahl p der bindungsfähigen Chromosomen je Zelle unendlich groß, so würde (1) bei zufallsgemäßer Verteilung der Chiasmen die Anzahl b der gebundenen Chromosomen mit zunehmender Anzahl x stets doppelt so groß wie x bleiben, d. h. (2) die Bindungsfähigkeit jedes Chiasmas bliebe 2. Dies ist (1) durch die (gestrichelt gezeichnete) $E(b)$ -Gerade, welche in dem Punkt $0x, 0b$ beginnt, für b angezeigt und (2) für b/x durch die (gestrichelt gezeichnete) $E(B)/X$ -Gerade, welche in dem Punkt $0x, 2, 0B/X$ beginnt und die parallel zur Abszisse läuft, wobei die Ausdrücke $E(b)$ und $E(B)/X$ die theoretische Erwartung von b bzw. B/X bezeichnen sollen (linke Skala der Ordinate ist b , rechte b/x). Wenn B und X als die gesamten Anzahlen (also die Summen) der gebundenen Chromosomen und der Chiasmen von allen ausgezählten Zellen einer Fixierung bezeichnet werden, dann ist $\frac{b}{x} = \frac{B}{X} \cdot \frac{b}{x}$ kann definiert werden als „die durchschnittliche Bindungsfähigkeit eines einzelnen Chiasmas“. Die ständig zunehmende Abweichung der empirischen b -Kurve von der $E(b)$ -Geraden (für $p = \infty$) ist vor allem eine Folge davon, daß die Zahl der bindungsfähigen Chromosomen begrenzt und nicht unendlich groß ist. Mit zunehmender Chiasmenanzahl x läßt die Bindungsfähigkeit jedes einzelnen Chiasmas progressiv nach, d. h. auf jeweils 2 Chromosomen, die schon durch ein Chiasma gebunden sind, „fällt“ in zunehmendem Maße ein zweites Chiasma.

Wenn man die Beziehung von x zu x/b (entsprechend der Chiasmenanzahl je Bivalent) (nach den Werten GAUL 1953a in Tabelle 12), graphisch darstellt, so zeigen sich konsequenterweise gegensinnige Verhältnisse zu Abb. 3. Wird auf der Abszisse x und auf der Ordinate x/b eingetragen, dann verläuft die Kurve bei zunehmendem x zunächst flach, biegt dann immer stärker nach oben und hat schließlich die Tendenz (oberhalb der empirisch ermittelten Chiasmenanzahlen x) in eine Gerade überzugehen, welche dann x/b als proportional zu x anzeigt. Das letzte muß der Fall sein, wenn stets alle bindungsfähigen Chromosomen gebunden sind und nur noch zusätzlich Chiasmen auf Chromosomen „fallen“, die schon gebunden sind. Von einer graphischen Darstellung dieser Verhältnisse wird hier abgesehen.

Die Kurve in Abb. 3 ist ein Ausdruck des Verteilungsmechanismus der Chiasmen auf die Chromosomenarme. Erstaunlich ist die strenge Gesetzmäßigkeit dieser Verteilung, die offensichtlich von Umweltfaktoren und Genen, welche die Chiasmenfrequenz steuern, unabhängig ist (oder zumindest nicht wesentlich beeinflusst wird). Häufig liegen Punkte der Kurve unmittelbar nebeneinander oder praktisch aufeinander, welche zu genetisch anderen F_1 -Pflanzen gehören, und die unter verschiedensten Umweltbedingungen fixiert wurden (vgl. GAUL 1953a, Tabelle 12). Mehrfach untersuchte Pflanzen mit jeweils unterschiedlicher Chiasmenanzahl haben entsprechend geänderte b -Werte. So zeigt die Kurve, daß zu einem bestimmten x -Wert obligatorisch ein bestimmter b -Wert gehört. Die Chiasmenfrequenz wird durch Gene und Umwelt beeinflusst, nicht aber der Chiasmenverteilungsmechanismus. Der asynaptische „Defekt“ wirkt sich nur auf die Chiasmenanzahl aus, nicht auf die Bindungsfähigkeit der Chiasmen. Nimmt man an, daß der Verteilungsmechanismus an den Entstehungsmechanismus gekoppelt ist, so zeigt der homogene Kurvenverlauf an, daß die Faktoren, welche die Chiasmenbildung beeinflussen, qualitativ überall die gleichen sind. Nur quantitativ ändern sie sich, das Prinzip der Chiasmenbildung ist überall gleich. Als solche nur quantitativ wirkenden Faktoren sind vorstellbar: (1) die begrenzte Paarungszeit, (2) echter Chiasmenausfall trotz Paarung.

Wenn hier also die Chiasmenverteilung durch eine strenge Gesetzmäßigkeit gelenkt wird, so entsteht weiterhin die Frage nach der Art des Verteilungsmechanismus, der nun durch ein mathematisches Wahrscheinlichkeitsmodell zu erfassen ist. Hiermit im Zusammenhang steht die wichtige Aufgabe, den Endwert der Kurve, d. h. die potentiell paarungsfähigen (= bindungsfähigen) Chromosomen im voraus zu berechnen. Die Lösung dieses Problems muß mit simplifizierten Verhältnissen beginnen, um dann, wenn erforderlich, hieraus die komplizierteren abzuleiten. Deshalb sollen vorerst bei einer bestimmten Anzahl P jeweils zu zweit „paarungsfähiger Chromosomen“ (die also homolog oder partiell homolog sind) für jedes Chromosomenpaar gleiche Chiasmenchancen angenommen werden. Auf jedem Paar von Chromosomenarmen (= Anzahl P) soll 0 oder 1 Chiasma mit der gleichen Wahrscheinlichkeit gebildet werden können, d. h. je Chromosomenpaar 0,1 oder 2 Chiasmen. Auf Grund der Annahme, daß sich die Chiasmen unter diesen Voraussetzungen zufällig auf die gepaarten Chromosomenarme verteilen, ergibt sich mit Hilfe kombinatorischer Überlegungen für die mit $E(B)$ bezeichnete erwartungsmäßige Anzahl von B die Formel

$$E(B) = \frac{X(2P - X - 1)}{P - 1} \quad (1)$$

(B = Anzahl gebundener Chromosomen, P = Anzahl paarungsfähiger Chromosomen, X = Anzahl der Chiasmen). Wie oben definiert beziehen sich hierbei die Anzahlen B , P und X nicht auf die entsprechenden Durchschnittswerte, sondern auf die gesamten ausgezählten Anzahlen einer Fixierung. Sind also z. B. in 50 PMZ insgesamt 500 Chiasmen gezählt, so ist dieser absolute Wert einzusetzen und nicht der Durchschnittswert 10,0 je Zelle usw. Die Berechtigung hierzu ist schon durch PRAKKEN (1943) gegeben worden, der bei asynaptischem Roggen fand, daß die Bivalente aller Zellen als eine Population aufzufassen sind. Die Formel (1) stellt eine Parabel dar, d. h. der Erwartungswert von B hängt parabolisch von X ab.

Es ist nun überraschend, daß der empirische Verlauf der Kurve (Abb. 3) keine (oder keine wesentlich) feststellbare Abweichung von dieser relativ einfachen Gesetzmäßigkeit zeigt, d. h. auch die beobachtete Beziehung zwischen den Durchschnittswerten für B und X , also b und x , ergibt eine Parabel. Dies trifft jedenfalls für den Bereich der empirisch ermittelten Werte zu, in denen praktisch nicht mehr als 1 Chiasma je Chromosomenarm beobachtet wurde¹. Deshalb

¹ Auf Grund von kombinatorischen Rechnungen mit kleinen Chromosomenzahlen war ich zunächst empirisch zu folgender Parabel gekommen: $B = \frac{X(2P - X)}{P}$. Diese Formel wurde an der hohen Chromosomenzahl der Kurven von $6n$ und $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* geprüft und zeigte hier gleich gute Übereinstimmung wie an den theoretischen Beispielen. Herrn Professor MÜNZNER, Direktor des Institutes für mathematische Statistik und Wirtschaftsmathematik der Universität Göttingen, bin ich für die korrekte mathematische Lösung außerordentlich zu Dank verpflichtet. Die Formel (1) wurde von ihm in kürzester Zeit, nur auf Grund der oben gegebenen theoretischen Annahmen abgeleitet, ohne daß Herrn Professor MÜNZNER meine empirische Formel und auch die Abb. 3 bekannt waren. Die empirische Formel unterscheidet sich von der exakten nur durch das -1 im Zähler und Nenner. Je größer aber die Anzahl der ausgezählten Zellen ist (also die Anzahl B , P und X) um so bedeutungsloser wird dieser Wert. Schon bei Auszählungen von weniger als 50 PMZ spielt er praktisch keine Rolle mehr und hat nur noch theoretischen Wert. Die Veröffentlichung der Ableitung der Formel ist im Zusammenhang einer weiteren, eingehenderen Analyse der Paarungsvariation vorgesehen.

Tabelle 3. *Gebundene Chromosomen je Chiasma, errechnete paarungsfähige Chromosomen je PMZ.*
(Laufende Nummer bezieht sich auf GAUL 1953a, Tabelle 12, 9, 7. Dort sind auch die zur Errechnung von B/X und p notwendigen Werte für b .)

6n <i>Triticum</i> × <i>A. intermedium</i>				4n <i>Triticum</i> × <i>A. intermedium</i>				<i>Sceate cereale</i> × <i>A. intermedium</i>			
Lfd. Nr.	Durchschnittliche Chiasmata je PMZ	Durchschnittlich gebundene Chromosomen je Chiasma	Errechnete paarungsfähige Chromosomen je PMZ	Lfd. Nr.	Durchschnittliche Chiasmata je PMZ	Durchschnittlich gebundene Chromosomen je PMZ	Errechnete paarungsfähige Chromosomen je PMZ	Lfd. Nr.	Durchschnittliche Chiasmata je PMZ	Durchschnittlich gebundene Chromosomen je Chiasma	Errechnete paarungsfähige Chromosomen je PMZ
4	8,26	1,80	41,52	1	4,88	1,81	25,25	1	8,68	1,70	28,02
5	8,52	1,72	30,71	2	5,04	1,85	34,21	2	9,86	1,68	30,72
6	9,10	1,76	38,63	3	5,22	1,79	24,70	3	10,36	1,48	19,93
7	9,16	1,75	36,42	4	6,42	1,76	26,70	4	10,71	1,48	20,46
8	9,20	1,75	36,11	5	7,28	1,75	29,06	5	11,24	1,45	20,56
9	9,32	1,81	49,83	6	7,52	1,77	32,43	6	12,16	1,43	21,29
10	9,34	1,80	46,32	7	7,74	1,73	30,67	7	12,90	1,36	20,00
11	9,82	1,76	40,80	8	8,14	1,77	35,18				
12	9,86	1,75	38,83	9	8,22	1,75	33,39				
13	10,86	1,80	55,55	10	8,38	1,79	40,28				
14	11,30	1,72	40,10	11	8,40	1,66	24,98				
15	11,40	1,64	31,51	12	8,48	1,76	35,54				
16	11,60	1,70	38,40	13	8,58	1,73	31,68				
17	12,48	1,64	34,73	14	8,66	1,77	38,19				
18	12,52	1,67	38,19	15	8,76	1,70	29,47				
19	12,60	1,70	41,73	16	8,88	1,72	31,24				
20	13,16	1,72	46,76	17	10,58	1,63	28,82				
21	13,42	1,66	39,46								
22	13,60	1,69	43,99								
23	13,74	1,66	40,82								
24	14,00	1,67	42,75								
25	14,22	1,73	51,80								
26	14,76	1,65	41,70								
27	15,92	1,58	37,46								
28	16,12	1,57	37,20								
29	16,34	1,56	37,26								
30	16,72	1,62	43,65								
31	17,20	1,55	38,40								
32	17,42	1,55	38,58								
33	17,98	1,57	41,74								
34	18,52	1,52	38,17								
35	19,84	1,46	36,98								
36	20,48	1,47	38,61								
37	20,54	1,48	39,71								
Gesamtdurchschnitt			40,42	Gesamtdurchschnitt			31,28	Gesamtdurchschnitt			
Nr. 14—26 durchschnittl.			40,36	Nr. 1—9 durchschnittl.			30,18	(ohne Nr. 1 und 2)			20,33
Nr. 27—47			40,46	Nr. 10—18			32,53				
Nr. 27—36			42,19								
Nr. 37—47			38,89								

ist es möglich, die theoretische Erwartung $E(B)$ mit der tatsächlich beobachteten Anzahl B gleichzusetzen und die Anzahl P der paarungsfähigen Chromosomen (die also homologe Segmente besitzen) aus (1) zu berechnen:

$$P = \frac{X^2 + X - B}{2X - B} \quad (2)$$

Die Streuung der errechneten p -Werte (Tabelle 3) darf nicht überraschen ($p = P/Z$, wobei Z die Anzahl ausgezählter Zellen einer Fixierung ist). Jede gering-

füüge, streuungsmäßige Abweichung irgendwo am Anfang der Kurve muß sich stark vergrößert auf einen geänderten Endwert auswirken. Eine zahlenmäßig absolut gleiche Abweichung vom erwarteten B -Wert (= theoretischer Kurvenverlauf) wirkt sich um so extremer auf einen entsprechend geänderten P -Wert aus, je mehr diese Abweichung zum 0-Punkt der Kurve hin erfolgt. Deshalb muß bei der Feststellung des gesamten Mittelwertes von P , den P -Werten von Stichproben mit geringerer Chiasmenfrequenz ein geringeres Gewicht zukommen als denen mit hoher Chiasmenfrequenz. Als weiterer Grund hierfür kommt hinzu, daß bei geringeren X die auftretenden Zufallsschwankungen mehr ins Gewicht fallen. Der Gesamtdurchschnitt der p -Werte (Tabelle 3, *T. aestivum* \times *A. intermedium*, Nr. 14—47) beträgt 40,42, der von Nr. 14—26 40,36, der von Nr. 27—47 40,46, der von Nr. 27—36 42,19, aber der von Nr. 37—47 nur 38,89. Man wird deshalb wohl nicht fehlgehen, wenn man, auch ohne Zuhilfenahme einer komplizierten (exakten) Ausgleichsrechnung vorläufig einen totalen Mittelwert für $p = 40 \pm 1$ annimmt¹. Aus den kürzlich dargestellten genomanalytischen Er-

gebnissen (GAUL 1953a) folgt, daß etwa zwischen 36 und 42 paarungsfähige Chromosomen zu erwarten sind.

Die ausgezogene Kurvenlinie (Abb. 3) stellt den theoretisch erwarteten Verlauf dar,

wenn man $p = 40$ unterstellt und die b -Werte nach Formel (1) ausrechnet ($b = B/Z$). 23 Stichproben (Auszahlungen von jeweils 50 PMZ) liegen darüber, 18 darunter und 6 liegen praktisch auf der Kurve. Hier die Gegenüberstellung von theoretischer Erwartung und empirischem Befund an 3 Beispielen der letztgenannten Fälle (Tabelle 4).

Die größte streuungsmäßige Abweichung ist bei Nr. 35 vorhanden, bei der 1168,04 B erwartet und 1227 B gefunden wurden. Diese Differenz weicht von der Erwartung um 5,05% ab. Meist ist die Abweichung bedeutend kleiner, und wenn man bedenkt, daß die Stichprobengröße nur 50 PMZ war, so kann diese Streuung nicht als ein Widerspruch zur Hypothese betrachtet werden.

Wenn auch ein statistisch exakter Test auf Übereinstimmung des empirischen Befundes mit der Hypothese erst in Aussicht genommen ist, so kann doch schon auf Grund der dargestellten, verhältnismäßig primitiven Methode der Prüfung offensichtlich keine Abweichung des Befundes von der Hypothese festgestellt werden.

Der errechnete Wert von etwa 40 paarungsfähigen Chromosomen legt die Frage nahe, ob tatsächlich nicht alle 42 Chromosomen, d. h. alle überhaupt vorhandenen Chromosomen paarungsfähig sind. In der Tat muß durchaus die Möglichkeit offen bleiben, daß Auszählungsfehler vorliegen, die vor allem eine Folge der Quetschtechnik sein mögen. Es wäre nämlich gut vorstellbar, daß nicht alle tatsächlich vorhandenen frühzeitig getrennten Bivalente (vgl. S. 82) bei den Auszahlungen miterfaßt wurden, worauf bereits bei GAUL (1953a, S. 516 und 517) hingewiesen worden ist. Zwar dürfte der Fehler, der durch die nicht erfaßten frühzeitig getrennten Bivalente entstanden ist, überall etwa gleich groß

¹ Eine statistisch einwandfreie Berechnung erfolgt demnächst.

sein, da die F_{II} bei GAUL (1953a, S. 517) exakt definiert und entsprechend ausgezählt wurden; dies ändert aber nichts an der Möglichkeit, daß stets etwas weniger frühzeitig getrennte Bivalente ausgezählt wurden, als tatsächlich vorhanden waren.

Ist aber die Zahl der Bivalente mit 1 Chiasma in Wirklichkeit größer als ausgezählt werden konnte, so wäre der für jedes x beobachtete b -Wert etwas zu klein; d. h. die Kurve würde tatsächlich etwas höher verlaufen und eine entsprechende Berechnung $p=42$ ergeben.

Aus Formel (1) folgt nun ohne weiteres, daß die auf Grund der Theorie zu erwartende Bindungsfähigkeit $E(B)/X$ linear von X (d. h. in Form einer Geraden) abhängt.

$$\frac{E(B)}{X} = \frac{2P - X - 1}{P - 1}. \quad (3)$$

Diese Gerade beginnt in dem Punkt des Abszissenwertes $0x$ und des Ordinatenwertes $2,0 B/X$ (Abb. 3, rechte Skala) und schneidet die Abszisse gerade bei $x=X/Z=40$. Die Art der Darstellung in Abb. 3 ermöglicht ein sofortiges Errechnen der theoretischen $E(b)$, indem man $E(B)/X$ abliest und mit x multipliziert.

Beispiel: Es sind durchschnittlich $10x$ je Zelle beobachtet. Wie groß ist die zu erwartende Anzahl b ? Man verfolgt die Senkrechte, die durch $10x$ geht, bis sie die $E(B)/X$ -Gerade (für $p=40$) schneidet. Hier liest man auf der rechten Ordinatenskala als $E(B)/X$ -Wert $1,75$ ab. Mit den beobachteten $10x$ multipliziert, ergibt dies dann eine Erwartung von $17,5b$. Dieser Wert wird auf Grund der linken Ordinatenskala als Kurvenpunkt eingetragen.

Die streuungsmäßigen B/X -Abweichungen von der Erwartung erscheinen bei dieser Art der Darstellung gegenüber der entsprechenden b -Abweichung natürlich vielfach vergrößert (Abb. 3). An Hand der B/X -Punkte kann man auch die vorher errechnete Erwartung von p (Tabelle 3) direkt graphisch ablesen. Wird ein Lineal durch (1) den Punkt $x=0$, $B/X=2,0$ und durch (2) den B/X -Streuungspunkt angelegt, so entspricht die auf der Abszisse abzulesende Anzahl x der gesuchten Anzahl p . Es wird hier deutlich, was vorher schon betont wurde, daß eine absolut gleiche Streuungsabweichung sich bei geringer Chiasmenfrequenz stärker auf den entsprechenden p -Wert auswirkt als bei hoher Chiasmenfrequenz.

Dieser hier beobachtete Verteilungsmechanismus, bei dem keine (oder keine deutliche) Abweichung von rein zufälliger Chiasmenverteilung bei gleicher Chiasmenchance für alle 40 Paare von Chromosomenarmen festgestellt werden konnte, widerspricht zunächst der üblichen Vorstellung. Bei dem strukturiert heterozygoten Material der *Triticum* \times *A. intermedium*-Bastarde sollte man annehmen, daß die unterschiedlichen Segmentpaare, entsprechend der Länge und dem Grad dieser homologen Abschnitte, in unterschiedlicher Häufigkeit Chiasmen bilden. Hier entsteht vor allem die Frage, wieweit geringfügige Unterschiede in der Chiasmenchance eine Kurvenänderung bewirken. Weiterhin muß die Möglichkeit offenbleiben, daß einige wenige Chromosomen nur auf einem Arm paarungsfähige Segmente besitzen. Dies würde sich vermutlich im ersten Teil der Kurve nur in einer geringfügigen Veränderung der theoretischen Erwartung auswirken und könnte den Mittelwert $p=40 \pm 1$ etwas variieren. Die Diskussion dieser sowie einer Reihe ähnlicher Fragen ist im Rahmen einer umfassenden Analyse der gefundenen Paarungsvariationen demnächst vorgesehen.

Es muß aber schon jetzt darauf hingewiesen werden, daß MATHERS (1937) zusammenfassende Ergebnisse über die Chiasmenfrequenz der Chromosomen bei

Organismen mit unterschiedlicher Chromosomenlänge in direkter Übereinstimmung mit dem eigenen Befund stehen. Die Chiasmenanzahl je Bivalent ist hier nämlich nicht der Chromosomenlänge proportional, sondern die kurzen Chromosomen haben eine unverhältnismäßig hohe Chiasmenanzahl (abgesehen von Typen, bei denen die kurzen Chromosomen duplizierte Segmente darstellen, und vom 8chromosomigen Roggen von DARLINGTON). Die Bildung des ersten Chiasmas erfolgt unabhängig von der Chromosomenlänge, kurze Chromosomen haben für dieses erste Chiasma die gleiche Chance wie lange Chromosomen, und bis zu einer Chromosomenlänge von etwa 3μ ist z. B. bei *Locusta migratoria* die Chiasmenfrequenz stets gleich 1. Werden diese Ergebnisse auf die Weizen-Queckenbastarde übertragen, so bedeutet dies, daß bei unterschiedlich langen homologen

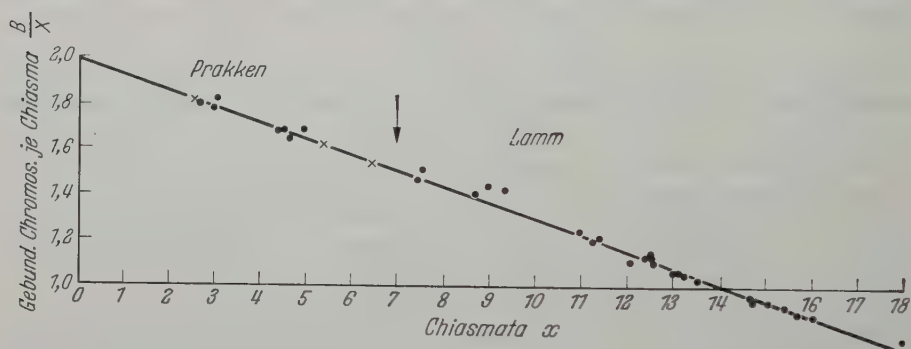


Abb. 4. Durchschnittliche Chiasmenanzahl x je Zelle und durchschnittliche Bindungsfähigkeit jedes einzelnen Chiasmas B/X bei asynaptischem *Secale cereale* nach Angaben von LAMM (1936) und PRAKKEN (1943). Die Auszählungen von PRAKKEN basieren auf mindestens 100 PMZ, meist mehreren hundert, die von LAMM auf 20 PMZ. \times = auf B/X umgerechnete Werte PRAKKENS theoretischer Erwartung an Ring-II und Stab-II sowie gleichzeitig der entsprechende empirische Befund, der sich fast hiermit deckt.

Segmenten auf verschiedenen Paaren von Chromosomenarmen die gleiche Chiasmenhäufigkeit für das erste Chiasma zu erwarten ist, und gerade dies war die Voraussetzung für die gefundene parabolische Abhängigkeit der gebundenen Chromosomen von den Chiasmen. Es wurde nur maximal 1 Chiasma auf einem Paar Chromosomenarme angenommen und praktisch auch nicht mehr beobachtet. Nur ausnahmsweise wurden bei den Pflanzen mit höchster Chiasmenfrequenz auf einem Paar Chromosomenarme 2 Chiasmen festgestellt, maximal waren bei 2 Pflanzenfixierungen (GAUL 1953a, K 1/37 F, K 1/35 T) rund 1% der Chiasmen so verteilt (meist als Ring-III). Deshalb wurde diese Erscheinung für die theoretische Erwartung vernachlässigt. Mit zunehmendem zweiten und folgendem Chiasma je gepaarten Chromosomenarmen sind von dem einfachen Verteilungsmechanismus Abweichungen zu erwarten, weil (1) die unterschiedliche Segmentlänge zum Zuge kommt und (2) Interferenz auftritt. Deshalb hat die in Abb. 3 über den empirisch gefundenen maximalen Wert hinausgehende, bis zum Endwert ausgezogene Kurve nur begrenzte Bedeutung, da sich möglicherweise die Voraussetzungen etwas ändern können. Dies ändert natürlich nichts an der Gültigkeit der Methode zur Errechnung der paarungsfähigen Chromosomen.

Bei *Secale cereale* scheint aber auch keine deutliche Abweichung von dem theoretischen Kurvenverlauf im letzten, oberen Teil feststellbar zu sein. Aus den Arbeiten von LAMM (1936) und PRAKKEN (1943) habe ich für den asynaptischen

Roggen die B X -Werte entnommen (Abb. 4). Während PRAKKEN in seinem Material eine Spanne der Chiasmenanzahlen von etwa durchschnittlich 2,5—6,5 Chiasmen je Zelle vorfindet, reichen die Chiasmenanzahlen bei LAMMS Roggen von etwa 7,5 bis weit über 14 hinaus. In den Daten von LAMM ist die Streuung größer, hier wurden nur 20 PMZ ausgezählt, während PRAKKEN mindestens 100, meistens aber mehrere Hundert auszählte. Diese Ergebnisse zeigen weitgehende Übereinstimmung mit der theoretischen Erwartung, und es wird deutlich, daß die empirische B/X -Gerade ziemlich genau bei $14x$ die Abszisse schneidet. Auch bei asynaptischem *Secale cereale* ist die Beziehung der gebundenen Chromosomen zu den Chiasmen durch eine Parabel gegeben. PRAKKEN hat für 3 Pflanzen die zufallsgemäße Chiasmenverteilung in bezug auf die zu erwartende Häufigkeit von Stab-II und Ring-II errechnet¹. Umgerechnet auf B zeigt dieses Ergebnis Übereinstimmung mit den nach Formel (1) errechneten Werten, und die (errechneten)entsprechenden $E(B)$ X -Werte liegen genau auf der Geraden (s. Abb. 4). Auch beim Roggen sind die paarenden Segmente nicht bei allen Chromosomen gleich lang, da 3 Chromosomenpaare subterminale Zentromeren haben. Deshalb kann auch bei *Secale* für das erste Chiasma auf allen Paaren von Chromosomenarmen, gleich ob kurz oder lang, die gleiche Häufigkeit angenommen werden.

Ähnliche Übereinstimmung mit der Parabel wie die $6n$ Weizenbastarde zeigt auch $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium*. Der Gesamtdurchschnitt der errechneten P -Werte ist 31,28 (Tabelle 3), von Nr. 1—9 30,18 und von Nr. 10—18 32,53. Der totale Mittelwert wird deshalb mit $p = 32 + 1$ angenommen. (Da die Beobachtungen hier weit im unteren Teil der Kurve liegen, wären größere Auszählungen der Pflanzen mit höchster Paarung wünschenswert und könnten diesen Mittelwert noch um etwa 1—2 Chromosomen verändern.) Es folgen 3 Beispiele mit guter Übereinstimmung von theoretischer Erwartung und tatsächlichem Befund (Tabelle 5).

Tabelle 5.

Nr.	Gezählte X	Erwartete B	Gefundene B
6	376	664,29	665
13	429	743,70	742
16	444	765,55	762

Tabelle 6.

Nr.	Gezählte X	Erwartete B	Gefundene B
3	518	768,96	767
7	645	875,55	875

Die größte Abweichung von der Erwartung ($p = 32$) ist bei Nr. 10 mit 751 B statt 728 B ($= 3,14\%$ Differenz).

Wenn bei *Secale cereale* \times *A. intermedium* 2 Abweicher (Tabelle 3, Nr. 1 und 2) eliminiert werden, und man $p = 20$ annimmt, ist auch hier keine Abweichung von dem gleichen Verteilungsprinzip feststellbar (vgl. Tabelle 6).

Es erscheint hier aber Vorsicht geboten, da Nr. 1 und Nr. 2 erheblich abweichen, trotzdem sich diese Punkte verhältnismäßig nahe dem Endwert der Kurve befinden (vgl. GAUL 1953a, Abb. 19). Die starken Anomalien (GAUL 1953b) und auch die Tatsache, daß die Chromosomenarme schon häufiger an einem zweiten Chiasma teilnehmen (Ring-III), schränken die Bedeutung dieses Wertes ein. Auch müßte hier noch die Frage theoretisch untersucht werden, wie sich jeweils 2 Chromosomen, die nur auf einem Paar ihrer Arme Chiasmen bilden können, in einer Veränderung der Kurve auswirken u. ä.

¹ Der Verfasser gibt nicht den Weg dieser Errechnung an (vermutlich nach der binomischen Verteilung).

Es wurde in diesem Abschnitt gezeigt, daß bei Verhältnissen, die zunächst so unterschiedlich für die Chiasmenverteilung erscheinen, wie die stark strukturoheterozygoten *Triticum* \times *A. intermedium*-Bastarde und der Roggen bezüglich des Verteilungsmechanismus der ersten Chiasmen auf die Chromosomenarme, keine Abweichung von der gleichen Parabel-Gesetzmäßigkeit festgestellt werden konnte. Es ist deshalb berechtigt, das gleiche Prinzip arbeitshypothetisch als universell für alle solche Organismen anzusehen, bei denen von den paarungsfähigen Chromosomen jeder Chromosomenarm an einem Chiasma teilnehmen kann. In Spezialfällen wird man möglicherweise mit gewissen Abweichungen zu rechnen haben (z. B. die schon erwähnten Typen mit kurzen Chromosomen, welche duplizierte Segmente darstellen und ähnliches).

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß bei Art- und Gattungsbastarden die genisch bedingte Chiasmenreduktion sowie auch die durch die Umwelt induzierte (Temperatur, Feuchtigkeit) es oft unmöglich macht, ein klares Bild über die tatsächlichen Homologien zu gewinnen. Wenn z. B. die Hypothese der gleichen Chance für das erste Chiasma auch für die schon erwähnten ABD-Genome von *Triticum* Gültigkeit hat, so folgt hieraus, daß die von irgendeinem Untersucher bei einer haploiden Weizenpflanze oder Weizen \times Roggen- F_1 -Pflanze beobachteten 0—3_{II} keineswegs immer die gleichen Bivalente sind. Sie stellen vielmehr, wie auch bei *Triticum* \times *A. intermedium* nur eine zufällige Probe von allen paarungsfähigen Chromosomen dar, von denen jedes einzelne Chromosomenpaar mit der gleichen Häufigkeit dem Beobachter als Bivalent sichtbar wird (Chromosomenpaare, die nur auf einem ihrer beiden Armpaare ein Chiasma bilden können, haben gegenüber denen, die auf beiden Armen homologe Segmente besitzen, natürlich nur die halbe Chance, als Bivalente zu erscheinen). Vermutlich ist bei ABD die Zahl der autosyndetisch paarungsfähigen Chromosomen größer als meist angenommen wird, nur gelingt es selten, wenn überhaupt, so günstige genische und ökologische Bedingungen zu schaffen, welche die Chiasmenfrequenz stark erhöhen und dadurch zu einer mehr oder weniger konstanten Realisierung der potentiell vorhandenen Paarungsfähigkeit führen.

Was für die intergenomatische Paarung des Weizens gilt, trifft vermutlich generell für viele, wenn nicht für die meisten Art- und Gattungsbastarde zu. *Oft wird die Zahl der Chromosomen mit homologen Segmenten größer sein als die durch die klassische genomanalytische Methode direkt ermittelte Anzahl.* Die bisher ermittelten Werte werden häufig nur ausgesprochene Minimumwerte darstellen.

Auch das Problem der Fertilitätsminderung von Amphidiploiden hängt z. B. eng mit der Unkenntnis der tatsächlichen, intergenomatischen Beziehungen zusammen, soweit diese Sterilität eine Folge der Multivalentbildung ist. Deshalb tritt bei induzierten Amphidiploiden häufig Multivalentbildung auf, die auf Grund des Paarungsmangels der diploiden F_1 nicht erwartet wurde (SEARS 1941 b, BELL und SACHS 1953). Es ist zu hoffen, daß die Rückschlüsse aus dem Verteilungsmechanismus der ersten Chiasmen auf die Chromosomenarme die bisherige Unsicherheit der genomanalytischen Methoden einengen und uns einen Schritt weiterbringen. Mit gewissen Abweichungen von der Formel (1) muß natürlich gerechnet werden, insbesondere wenn bei einigen Chromosomen homologe Segmente nur auf einem Arm vorhanden sind, und der andere paarungsunfähig ist.

4. Ursachen der Asynapsis.

Alle Erklärungsversuche der Asynapsis haben durchaus hypothetischen Charakter, da wir über die physikochemischen Vorgänge der Chiasmenbildung zu wenig Reelles wissen. Nichtsdestoweniger muß ihre Bedeutung als Arbeitshypothesen betont werden. Zumeist werden zwei konträre Anschauungen zu Hilfe genommen, die „precocity-Theorie“ der Meiosis (DARLINGTON 1937) und die „retardation-Theorie“ (SAX und SAX 1935). Beide Hypothesen haben gemeinsam, daß sie mit dem Zeitfaktor als entscheidendem Moment für den Unterschied zwischen Meiosis und Mitosis operieren und in Konsequenz dessen die Asynapsis als eine Störung der normalen zeitlichen Beziehung zwischen der Entwicklung der Chromosomen und der Zelle ansehen.

Nach der *retardation-Theorie* (GUSTAFSSON 1942, STRAUB 1939) setzt bei Asynapsis die Prophase der Meiosis zu früh ein. Hierdurch ist die Entspiralisierung der Chromosomen unvollständig und zeitlich nicht von der neuen Spiralisierung getrennt. Da die Chromonemastreckung aber die Voraussetzung für die Längspaarung ist, ziehen sich die Chromosomen nicht oder nur unvollständig an, die Paarung unterbleibt ganz oder teilweise. „Je früher die Prophase einsetzt . . . um so mehr entmeiotisiert wird die Teilung, um schließlich ganz mitotisch zu werden. In solchen Fällen unterbleibt auch die starke Kernanschwellung“ (GUSTAFSSON 1942, S. 384). Diese Auffassung findet aber zumindest bei der gemisch bedingten, typischen Asynapsis keine Bestätigung. Es ist eine Reihe von Fällen bekannt, bei denen, entgegen dieser Theorie, vollständiges Pachytänpaaren beobachtet wurde und die asynaptischen Prophasenkerne sich nicht von normalen unterschieden, also auch nicht durch einen unterschiedlichen Spiralisationsgrad der Chromosomen (Tabelle 1, 1c). Am eindrucksvollsten ist in dieser Hinsicht *Allium* (LEVAN 1940). Hier wurde trotz normaler Pachytänpaarung in M_I nur auf etwa 800 Zellen 1 Chiasma beobachtet. PRAKKEN (1943) stellte bei *Secale* Größenmessungen von Pachytänkernen an und fand zwischen den asynaptischen und normalen keinen auffallenden Unterschied.

Nach der *precocity-Theorie*, die wohl von den meisten Forschern bevorzugt wird (HOLLINGSHEAD 1932, BEADLE 1933, HUSKINS und HEARNE 1933 in Modifikation von HUSKINS, LAMM 1936, KOLLER 1938, MATSUURA 1937, BARBER 1942, VAARAMA 1950 u. a.), setzt bei Asynapsis die Prophase zu spät ein („reduced precocity“). Der effektive Teilungsspalt der Chromosomen erscheint deshalb zu früh. Mit ihm wird der Anlagerungsvorgang unterbrochen. Die begrenzte Paarungszeit („time limit“) führt daher zu einer Lokalisation der Chiasmen auf die Kontaktpunkte oder zu einem gänzlichen Chiasmenausfall. HUSKINS und HEARNE (1933) beobachteten bei *Avena* ($6n-2$) zum Teil schon im frühen Leptotän den Teilungsspalt und im Pachytän waren die meisten ungepaarten Fäden gespalten. Wieder stehen dieser Theorie die Befunde der asynaptischen Pflanzen gegenüber, deren Paarung in der Prophase nicht von der bei normalen Pflanzen zu unterscheiden ist.

Die Beobachtungen der Asynapsis weisen darauf hin, daß der Unterschied zwischen Mitosis und Meiosis nicht allein durch einfache Änderung solcher Zeitrelationen zu erklären ist. Vermutlich müssen noch andere physiologische Änderungen hinzutreten. Nichtsdestoweniger mag dem Zeitfaktor die Hauptbedeutung zukommen.

Wird die precocity-Theorie akzeptiert, so ist sie für die gefundenen Widersprüche ausbaufähig. Auch konnten DARLINGTON und AMMAL (1945, zit. bei VAARAMA 1950) neuerdings eindrucksvoll demonstrieren, daß die begrenzte Paarungszeit eine Ursache für die Asynapsis ist. Bei triploidem asynaptischem *Nicandra physaloides* paarten die Isochromosomen normal, während die Autosomen starken Paarungsausfall zeigten. Es ist offensichtlich, daß die Arme der Isochromosomen, welche sich in unmittelbarer Nähe befinden, schneller paaren können als die weiter voneinander entfernt liegenden Autosomen. Zur Zeit sind vor allem 3 Möglichkeiten gegeben, um die scheinbar vollständige, frühe Prophasenpaarung auf der Grundlage der precocity-Theorie zu erklären.

(1) Es ist möglich, daß die zytologische Technik nicht ausreicht, um zu erkennen, daß die Paarung gegenüber der normalen weniger intensiv ist. Das heißt, *bevor der Zustand vollständiger Paarung erreicht ist*, wird der *Teilungsspalt bereits effektiv*, wenn auch zunächst noch unsichtbar, und dadurch die Chiasmenbildung verhindert. Auf dieser Linie liegt bereits die Erklärung, welche BEADLE (1933, S. 283—284) schon früh gab. Neuerdings fördert VAARAMA (1950) die precocity-Theorie in der gleichen Richtung: „... there is a hypothetical possibility that the splitting of the conjugating units occurs before the fulfilment of the mutual equilibrium between the torsion and relational coiling in and between chromatids. It is possible that normal chiasma formation will be prevented in such a way“ (S. 358). Eine verfrühte Teilung des Zentromers kann hinzutreten [entsprechend den Ergebnissen von MATSUURA (1937)] und die normale Chiasmenbildung verhindern.

(2) DARLINGTON selber machte später (1940), für die hier diskutierte typische Asynapsis, hypothetisch die *mangelnde Torsion* innerhalb und zwischen den gepaarten Chromosomen verantwortlich¹. Wenn die Paarung spät stattfindet (reduced precocity) soll die Torsion geringer sein, auch ist sie entlang der Bivalente sowie zwischen ihnen unterschiedlich stark entwickelt. Bleibt die Torsion unter dem Schwellenwert, der für das crossing-over erforderlich ist, so müssen die gepaarten Chromosomen früher oder später wieder auseinanderfallen. Diese Ansicht wird aber nicht durch die Beobachtungen bei *Crepis* unterstützt. RICHARDSON (1935) schreibt für das Diplotän: „Chromosomes are twisted about one another as in the normal . . .“ (S. 121—122). Und gerade die starke Torsionspaarung hatte hier auch ein spätes Auseinanderfallen (in der Diakinese) der chiasmlosen Bivalente zur Folge gehabt.

(3) Schließlich ist es naheliegend, echte Chiasmenreduktion oder -ausfall trotz vollständiger (sichtbarer) Paarung, als ein Ergebnis irgendwelcher *physikochemischen Änderungen des Chromosomenfadens* anzusehen. Diese können eine erhöhte oder erniedrigte Bruchfrequenz oder Bruchverteilungsfrequenz oder beides, möglicherweise parallellaufend, zur Folge haben. Solch eine Annahme führt keine neue Kraft zur Erklärung der Unterschiede zwischen Mitosis und Meiosis ein (und widerspricht somit nicht der Hauptvoraussetzung der precocity-Theorie), da dieser Faktor in der Mitosis nicht zum Tragen kommt, es sei denn etwa in einer Veränderung der spontanen Chromosomenmutationsrate. Das Problem der Asynapsis ist, wie gezeigt wurde, vermutlich gleichzeitig das Problem der geringen Unterschiede in der Chiasmenfrequenz zwischen verschiedenen Individuen, da

¹ VAARAMA (1950) erwähnt diese Arbeit von DARLINGTON nicht.

es alle Übergänge gibt. Schwach veränderte Chiasmenfrequenz muß demnach mit den gleichen Kräften zu erklären sein wie starke Asynapsis. WHITE (1934) fand temperaturbedingte Unterschiede in der Chiasmenanzahl je Bivalent und erklärt dies durch veränderte Chiasmeninterferenz, die ihrerseits wieder eine Folge der Änderung der physikalischen Eigenschaften der Chromosomen ist. Aber da die Interferenz keinen Einfluß auf Sein oder Nichtsein des ersten Chiasmas hat, kann sie nicht die Asynapsis erklären. Jedoch ist die Annahme nicht unberechtigt, daß einerseits spontane und induzierte Chromosomenbrüche sowie die anschließende Neuverheilung und andererseits das zytologische crossing over wesensverwandte Vorgänge sind. So ist seit langem bekannt, daß nach Behandlung mit Röntgenstrahlen bzw. Chemikalien die crossing over-Frequenzen erhöht werden (AUERBACH 1946, PARKER 1948, dort weitere Literatur). Die induzierten Bruch- und Rekombinationsfrequenzen sind ihrerseits abhängig vom physiologischen Zellzustand. KAPLAN (1951) konnte den Einfluß des Quellungszustandes von Samen auf die Frequenz der Chromosomenmutationen bei Bestrahlung zeigen (Quellung in Wasser, in CO_2 und NH_3 -haltigem Wasser und in Essigsäure). Weiterhin wurde die Bedeutung der O_2 -Atmosphäre, auch im Zusammenhang mit der Temperatur, während der Röntgenbestrahlung nachgewiesen (BAKER und SGOURAKIS 1950, RILEY und GILES 1950), und auch der Einfluß von Vor- und Nachbehandlung mit UV-Licht (SWANSON 1944) sowie Infrarotbestrahlung (YOST 1951) bei Röntgenbestrahlung auf die Häufigkeit der Chromosomenaberrationen. BISHOP (1950) stellte eine unterschiedliche Sensibilität der Chromosomen für Röntgenbestrahlung in verschiedenen Stadien der Pollenkornmitose fest. Auch muß in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß WALTERS (1952) bei *Bromus*-Hybriden Fragmentierungen fand, die sie als cross over-Brüche ohne anschließende Verheilung erklärt. — Nichts steht also der Annahme entgegen, auch die crossing over-Frequenz in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand der Chromosomen und der ganzen Zelle zu sehen.

Von den genannten 3 Möglichkeiten wird die letzte bevorzugt. Es ist auch gut möglich, daß die beiden anderen außerdem eine Rolle spielen.

Bei Nachkommenschaften von asynaptischen Pflanzen sollte man, als eine Folge der reduzierten Chiasmenfrequenzen, auch geringere genetische crossing over-Frequenzen erwarten. Es muß deshalb schließlich darauf hingewiesen werden, daß RHOADES (1946) erstaunlicherweise bei Mais in der sh-wx-Region „in a considerable percentage“ crossing over feststellte. SOOST (1951) prüfte bei 2 Genen von *Lycopersicum esculentum* die crossing over-Häufigkeit und fand keine Erniedrigung. Diese Ergebnisse sind schwer in Übereinstimmung mit der heute allgemein anerkannten Anschauung zu bringen, daß Chiasmen die Folge von crossing over sind und daß der Stücker Austausch zu Beginn des Diplotäns stattfindet. In der Tat bleiben in den beiden Untersuchungen noch einige Fragen offen, die erst geklärt werden müssen, bevor hieraus weittragende Konsequenzen gezogen werden können.

Zusammenfassung.

1. An Hand von etwa 50 in der Literatur bekannten Fällen genisch bedingter Asynapsis wird ein Überblick der Genetik, des Ablaufes und der Ursachen dieses Problems gegeben. Besonders berücksichtigt werden hierbei die asynaptischen *Triticum* \times *A. intermedium*-Bastarde, über deren zytologische Untersuchungsergebnisse in einer Sonderarbeit (GAUL 1953a) berichtet wurde. Diese Bastarde

werden weiterhin als Modellbeispiel für eine erweiternde Verbesserung der bisherigen genomanalytischen Methode benutzt.

2. In allen Fällen von Asynapsis bei reinen Arten, die im Vererbungsexperiment untersucht wurden, konnte gezeigt oder wahrscheinlich gemacht werden, daß die Asynapsis durch ein einfach mendelndes, rezessives Gen kontrolliert wird. Da dieser eine Faktor aber nicht die Unterschiede zwischen verschiedenen Pflanzen erklären kann, werden häufig zusätzliche Modifikationen vermutet. Auch geringe Unterschiede in der Chiasmenfrequenz scheinen ebenso wie starke oder mittelstarke Asynapsis erblich zu sein. Inzucht bei Fremdbestäubern führt zur Aufspaltung in Typen mit unterschiedlicher Chiasmenfrequenz und Kreuzung kann umgekehrt „Paarungsheterosis“ zur Folge haben, d. h. der Bastard hat eine größere Chiasmenfrequenz als beide Eltern. Vermutlich wird also die Chiasmenfrequenz durch eine Vielzahl selbständiger und/oder unselbständiger Gene gesteuert, die alle Übergänge von total asynaptischen Typen bis zu solchen mit maximaler Chiasmenfrequenz auslösen können. Wenn eine genügend große genetische Breite untersucht wird, werden diese Typen wahrscheinlich stets alle aufzufinden sein.

3. In den meisten und typischen Fällen genisch kontrollierter Asynapsis findet offenbar mehr oder weniger vollständige frühe Prophasenpaarung statt. Hier ist die Chiasmenbildung selber reduziert und deshalb fallen die gepaarten Chromosomen im weiteren Verlauf der Prophase sukzessiv auseinander, um in der Metaphase I als Univalente zu erscheinen. Sicherlich kann aber auch echte prophasische Paarungsbeschränkung und vermutlich auch totaler Paarungsausfall die Ursache der metaphasischen Asynapsis sein. — Asynapsis ist zwar oft, jedoch nicht zwangsläufig mit verminderter Chromosomenkontraktion in der Metaphase I verbunden. Objekte mit proterminaler Paarung (DARLINGTON 1940) zeigen bei Asynapsis in Metaphase I im allgemeinen einen größeren Terminalisationskoeffizienten.

4. Mit zunehmender durchschnittlicher Chiasmenanzahl je Zelle nimmt von Pflanze zu Pflanze die Anzahl der gebundenen Chromosomen je Zelle zunächst sehr schnell und dann immer langsamer zu. Bei *Triticum* \times *Agropyrum intermedium* (GAUL 1953a) und bei *Secale cereale* (LAMM 1936, PRAKKEN 1943) besteht offensichtlich eine strenge Gesetzmäßigkeit der Chiasmenverteilung auf die gepaarten Chromosomenarme, die es ermöglicht, die potentielle Anzahl paarungsfähiger Chromosomen [= Anzahl tatsächlich vorhandener (partiell) homologer Chromosomen], die jenseits der zufällig in dem asynaptischen Muster beobachteten liegt, zu errechnen. Aus der bei zufälliger Chiasmenverteilung theoretisch zu erwartenden parabolischen Abhängigkeit der gebundenen Chromosomen von den Chiasmen, von welcher empirisch keine Abweichung festgestellt werden konnte, folgt nämlich für die Anzahl p paarungsfähiger Chromosomen je Zelle

$$p = \frac{X^2 + X - B}{(2X - B) \cdot Z}$$

(X und B = Anzahlen ausgezählter Chiasmen und gebundener Chromosomen in der Anzahl Z ausgezählter Zellen einer Fixierung).

Auf diese Weise wurde für das Modellbeispiel $6n$ und $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* die Anzahl der paarungsfähigen Chromosomen errechnet. Es wird die Hypothese der universellen Gültigkeit dieser Methode aufgestellt, wenn auch

diese Methode im einzelnen noch variiert werden mag. Da bei Art- und Gattungsbastarden genisch kontrollierte Chiasmenreduktion, sowie auch ökologisch induzierte eine allgemeine Erscheinung ist, kann durch die vorgeschlagene Methode das Zufallsmoment des untersuchten Musters weitgehend ausgeschaltet werden und es ist möglich, die tatsächliche Anzahl paarungsfähiger Chromosomen zu errechnen, die im allgemeinen größer als die beobachtete Anzahl gebundener Chromosomen sein wird.

5. Alle Hypothesen zur Erklärung der Ursachen der Asynapsis sind noch recht unsicher, da über den Vorgang der Chiasmenbildung zu wenig bekannt ist. Vorerst ist anzunehmen, daß einer Verkürzung der Anlagerungszeit der Chromosomen in der Prophase eine gewisse Wirkung zukommt. Der Zeitfaktor kann direkt oder indirekt (z. B. Viskositätsänderung des Plasmas, WIEBALCK 1940/41) wirken. Da aber in den typischen Fällen der Asynapsis die Paarung, in der Prophase vollständig erscheint und nicht von der normalen zu unterscheiden ist, müssen noch andere Faktoren in wechselnder Bedeutung und möglicherweise in direkter Beziehung zum Zeitfaktor hinzutreten. Als solche kommen vor allem in Frage: Veränderung des „crossing over-Potentials“ (DARLINGTON 1940) durch (1) irgendwelche physikochemischen Änderungen der Bruchbereitschaft der Chromosomen, (2) durch Änderung der Torsion und/oder (3) durch zu frühe Wirksamkeit des Teilungsspalt der Chromosomen.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. WILHELM RUDORF, Direktor des Max-Planck-Institutes für Züchtungsforschung, danke ich herzlich für fortwährende Unterstützung der Arbeit. Herrn Dr. KAPLAN bin ich für kritische und fördernde Diskussionen zu Dank verbunden.

Literatur.

- AASE, H. C.: Cytology of cereals. II. Bot. Review **12**, 255 (1946). — ANDERSSON, E.: A case of asynapsis in *Picea abies*. Hereditas (Lund) **33**, 301 (1947). — ARMSTRONG, J. M., and C. L. HUSKINS: Further studies on the cytology of *Matthiola incana*. J. Genet. **29**, 29 (1934). — AUERBACH, L.: The problem of chromosome re-arrangements in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh **62**, 120 (1946). — AVERY, P.: Chromosome number and morphology in *Nicotiana*. IV. The nature and affects of chromosomal irregularities in *N. alata* var. *grandiflora*. Univ. California Publ. Bot. **11**, 265 (1929). — BAKER, W., and E. SGOURAKIS: Alteration of the X-ray sensitivity of *Drosophila* by means of respiratory inhibitors. Genetics **35**, 96 (1950) (Abst.). — BARBER, H. N.: The experimental control of chromosome pairing in *Fritillaria*. J. Genet. **43**, 359 (1942). — BEADLE, G. W.: Genetical and cytological studies of mendelian asynapsis in *Zea mays*. Cornell Univ. Agric. Exp. Stat. Mem. **129**, 1 (1930). — Further studies of asynaptic maize. Cytologia **4**, 269 (1933). — BEADLE, G. W., and B. MCCLINTOCK: A genetic disturbance of meiosis in *Zea mays*. Science (Lancaster, Pa.) **68**, 433 (1928). — BEASLEY, J. O., and M. S. BROWN: Asynaptic *Gossypium*-plants and their polyploids. J. Agricult. Res. **65**, 421 (1942). — BELL, G. H. D., and LEO SACHS: Investigations in the Triticinae. II. The cytology and fertility of intergeneric and interspecific F_1 hybrids and their derived amphidiploids. J. Agricult. Sci. **43**, 105 (1953). — BERG, H. M. VOM: Cytologische Untersuchungen an der Nachkommenschaft künstlich erzeugter Weizenmutanten. Ber. dtsh. bot. Ges. **53**, 549 (1935). — BERGMANN, B. T.: Asynapsis in macrosporogenesis of diploid, triploid and tetraploid *Chrysanthemum carinatum*. Hereditas (Lund) **38**, 83 (1952). — BERGNER, D., J. L. CARTLEDGE and A. F. BLAKESLEE: Chromosome behaviour due to a gene which prevents metaphase pairing in *Datura*. Cytologia **6**, 19 (1935). — BISHOP, CH.: Differential X-ray sensitivity of Tradescantia chromosomes during the mitotic cycle. Genetics **35**, 175 (1950). — BLAKESLEE, A. F., and A. G. AVERY: Three genes located in the 21.22 chromosome of the jimson weed. J. Hered. **25**, 393 (1934). — CHIN, T. C.: The cytology of polyploid *Sorghum*. Amer. J. Bot. **33**, 611 (1946). — CHIZAKI, Y.: Another new haploid plant in *Triticum monococcum* L. Botanic.

- Mag. 48, 621 (1934). — CLAUSEN, J.: Male sterility in *Viola Orphanides*. Hereditas (Lund) 14, 53 (1930). — CLAUSEN, R. E.: Inheritance in *Nicotiana tabacum*. XI. The fluted assemblage. Amer. Naturalist 65, 316 (1931). — DARLINGTON, C. D.: Chromosome studies in *Fritillaria*. III. Chiasmaformation and chromosome pairing in *F. imperialis*. Cytologia 2, 37 (1930). — Recent advances in cytology, 2. Aufl. London 1937. — The prime variables of meiosis. Biol. Rev. 15, 307 (1940). — DARLINGTON, C. D., and J. E. K. AMMAL: Adaptive isochromosomes in *Nicandra*. Ann. of Bot., N. S. 9, 267 (1945). Zit. bei VAARAMA 1950. — DARLINGTON, C. D., and L. LA COUR: The causal sequence of meiosis. III. The effect of hybridity in male and female celles of *Lilium*. J. Genet. 41, 49 (1940). — DOBZHANSKY, TH.: Studies on hybrid sterility. I. Spermatogenesis in pure and hybrid *Drosophila pseudoobscura*. Z. Zellforsch. 21, 169 (1934). — EKLUNDH-EHRENBURG, C.: Studies on asynapsis in the elm, *Ulmus glabra* HUDS. Hereditas (Lund) 35, 1 (1949). — EKSTRAND, H.: Ein Fall erblicher Asyndese bei *Hordeum*. Sv. bot. Tidskr. 26, 292 (1932). — EMSWELLER, S. L., and H. A. JONES: Meiosis in *Allium fistulosum*, *A. cepa* and their hybrid. Hilgardia 9, 277 (1935). — Crossing over, fragmentation, and formation of new chromosomes in an *Allium* species hybrid. Bot. Gaz. 99, 729 (1938). — FEDERLEY, H.: Chromosomenanalyse der reziproken Bastarde zwischen *Pygaera pigra* und *P. curtula* sowie ihrer Rückkreuzungsbastarde. Z. Zellforsch. B 12, 772 (1931). — GAINES, E. F., and H. C. AASE: A haploid wheat plant. Amer. J. Bot. 13, 373 (1926). — GAUL, H.: Genomanalytische Untersuchungen bei *Triticum* × *Agropyrum intermedium* unter Berücksichtigung von *Secale cereale* × *A. intermedium*. Z. Vererbungslehre 85, 505 (1953a). — Über meiotische Fragment- und Brückenbildung der Bastarde *Secale* und *Triticum* × *Agropyrum*. Chromosoma 6, 314—329 (1954). — GUSTAFSSON, Å.: Meiosis und Mitosis. Eine Erklärung der meiotischen Erscheinungen bei *Hieracium*. Chromosoma 2, 367 (1942). — HÅKANSSON, A.: Meiosis in a nullisomic and in an asyndetic *Godetia Whitneyi*. Hereditas (Lund) 29, 179 (1943). — Zytologische Studien an monosomischen Typen von *Godetia Whitneyi*. Hereditas (Lund.) 31, 129 (1945). — HASELWARTER, A.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. V. Z. Bot. 31, 273 (1937). — HICKS, G. C., and G. L. STEBBINS: Meiosis in some species and a hybrid of *Paeonia*. Amer. J. Bot. 21, 228 (1934). — HOLLINGSHEAD, L.: Cytological investigations of hybrids and hybrid derivatives of *Crepis capillaris* and *Crepis tectorum*. Univ. California Publ. Agr. Sci. 6, 55 (1930). — The occurrence of unpaired chromosomes in hybrids between varieties of *Triticum vulgare*. Cytologia 3, 119 (1932). — HUSKINS, C. L.: On the genetics and cytology of fatoid or false wild oats. J. Genet. 18, 315 (1927). — On the cytology of speltoid wheats in relation to their origin and genetic behaviour. J. Genet. 20, 103 (1928). — HUSKINS, C. L., and E. M. HEARNE: Meiosis in asynaptic dwarf oats and wheat. J. Roy. Microsc. Soc. 53, 109 (1933). — HUSKINS, C. L., and S. G. SMITH: A cytological study of the genus *Sorghum* Pers. II. The meiotic chromosomes. J. Genet. 28, 387 (1934). — JOHNSON, H.: Cytological studies in the genus *Alopecurus*. Lunds Univ. Arsskr. N. F., Abt. 2. 37, Nr 3, 1 (1941). Zit. bei PRAKKEN. — Meiotic aberrations and sterility in *Alopecurus myosuroides* HUDS. Hereditas (Lund) 30, 469 (1944). — KAKHIDZE, N. T.: Meiosis in inbred rye. C. r. (Doklady) Acad. Sci. URSS 25, 68 (1939). — KAPLAN, R.: Chromosomen- und Faktormutationsraten in Gerstenkörnern bei verschiedenartigen Quellungsbehandlungen oder Kälte während oder nach der Röntgenbestrahlung sowie bei Dosisfraktionierung. Z. Vererbungslehre 83, 347 (1951). — KATAYAMA, Y.: Haploid formation by X-rays in *Triticum monococcum*. Cytologia 5, 235 (1934). — Karyological comparisons of haploid plants from octoploid *Aegilotriticum* and diploid wheat. Jap. J. Bot. 7, 349 (1935). — KATTERMANN, G.: Die cytologischen Verhältnisse einiger Weizen-Roggenbastarde und ihrer Nachkommenschaft („F₂“). Züchter 6, 97 (1934). — Cytologische Feststellungen bei *Primula malacoides*. I. Mitteilung. Die diploiden Rassen. Gartenbauwiss. 9, 120 (1935a). — Die Chromosomenverhältnisse bei Weizen-Roggenbastarden der zweiten Generation mit besonderer Berücksichtigung der Homologiebeziehungen. Z. Vererbungslehre 70, 265 (1935b). — KIHARA, H.: Ein diplo-haploides Zwillingpaar bei *Triticum durum*. Agric. Hortic. 11, 1425 (1936). — Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. VII. Kurze Übersicht über die Ergebnisse der Jahre 1934/36. Mem. Coll. Agric. Kyoto Imp. Univ. 41, 1 (1937). — KIHARA, H., u. Y. KATAYAMA: Über das Vorkommen von haploiden Pflanzen bei *Triticum monococcum*. Kwagaku 2, 408 (1932). — Reifungsteilungen bei dem haploiden *Triticum monococcum*. (Deutsche Zusammenfassung.) Agric. Hortic. 8, 1 (1933). — KIHARA, H., u. K. YAMASHITA: Künstliche Erzeugung haploider und

triploider Einkornweizen durch Bestäubung mit röntgenbestrahltem Pollen. (Deutsche Zusammenfassung.) Contr. Lab. Genet., Biol. Inst., Kyoto Imp. Univ. **89**, 9 (1938). — KOELER, P. C.: Asynapsis in *Pisum sativum*. J. Genet. **36**, 275 (1938). — KOSTOFF, D.: Wheat phylesis and wheat breeding. Bibliogr. Genet. **13**, 149 (1941). — Haploide *Triticum vulgare* und die Variabilität ihrer Nachkommenschaften. Züchter **15**, 121 (1943). — KRISHNASWAMY, N.: Cytological studies in a haploid plant of *Triticum vulgare*. Hereditas (Lund) **25**, 77 (1939). — LAMM, R.: Cytological studies on inbred rye. Hereditas (Lund) **22**, 217 (1936). — LEBEDEFF, V. N.: The phenomena of autosyndesis in the interspecific hybrids of *vulgare*-wheat and their significance for the problem of phylogenesis of wheat. USSR, Narodny Komissariat Snabzenija Vsesojuznyi N-I Institut Sakjarnoi Promyslennosti 1933, S. 1. — LEIN, A.: Über Rückkreuzungsversuche eines amphidiploiden Weizen \times Roggenbastards mit Roggen. Kühn-Arch. **60**, 226 (1943/44). — LESLEY, M. M., and H. B. FROST: Mendelian inheritance of chromosome shape in *Matthiola*. Genetic. **12**, 449 (1927). — LEVAN, A.: Die Zytologie von *Allium cepa* \times *fistulosum*. Hereditas (Lund) **21**, 195 (1936). — The cytology of *Allium amplexans* and the occurrence in nature of its asynapsis. Hereditas (Lund) **26**, 353 (1940). — The cytology of the species hybrid *Allium cepa* \times *fistulosum* and its polyploid derivatives. Hereditas (Lund) **27**, 253 (1941). — Studies on the meiotic mechanism of haploid rye. Hereditas (Lund) **28**, 177 (1942). — LI, H. W., W. K. PAO and C. H. LI: Desynapsis in the common wheat. Amer. J. Bot. **32**, 92 (1945). — LILJEFORS, A.: Zytologische Untersuchungen über den F_1 Bastard *Triticum turgidum* \times *Secale cereale*. Hereditas (Lund) **21**, 240 (1936). — LINNERT, G.: Untersuchungen über die Cytologie polyploider Pflanzen. I. Chromosoma **3**, 328 (1948). — LÖVE, A.: Cytogenetic studies on *Rumex* sub-genus *Acetosella*. Hereditas (Lund) **30**, 1 (1944). — LOVE, R. M.: Varietal differences in meiotic chromosome behavior of brazilian wheats. Agricult. J. **43**, 72 (1951). — LOVE, R. M., and C. A. SUNESON: Cytogenetic of certain *Triticum-Agropyron* hybrids and their fertile derivatives. Amer. J. Bot. **32**, 451 (1945). — MAEDA, T.: Chiasma studies in *Allium fistulosum*, *A. cepa* and their F_1 , F_2 and backcross hybrids. Jap. J. Gen. **13**, 146 (1937). — MATHER, K.: The determination of position in crossing-over. II. The chromosome length-chiasma frequency relation. Cytologia, Fujii Jubilai I. **1937**, 514. — MATSUURA, H.: Chromosome studies on *Trillium Kamtschaticum* PALL. V. Abnormal meiotic division due to high temperature. Cytologia, Fujii Jubilai I, **1937**, 20. — MCCLINTOCK, B.: A cytological and genetical study of triploid maize. Genetics **14**, 180 (1929). — MCFADDEN, E. S., and E. R. SEARS: The genome approach in radical wheat breeding. J. Amer. Soc. Agronom. **39**, 1011 (1947). — MYERS, W. M.: Variations in chromosomal behavior during meiosis among plants of *Lolium perenne* L. Cytologia **11**, 388 (1941). — Analysis of variance and covariance of chromosomal association and behavior during meiosis in clones of *Dactylis glomerata*. Bot. Gaz. **104**, 541 (1943). — MYERS, W. M., and L. POWERS: Meiotic instability as an inherited character in varieties of *Triticum aestivum*. J. Agricult. Res. **56**, 441 (1938). — NAKAJIMA, G.: Cytological studies on intergeneric F_1 hybrid between *Triticum* and *Secale*, with special reference to the number of bivalents in meiosis of PMC-s. Cytologia **17**, 144 (1952). — NEWTON, W. C. F., and C. PELLEW: *Primula kewensis* and its derivatives. J. Genet. **20**, 405 (1929). — NISHIYAMA, I.: The genetics and cytology of certain cereals. II. Karyo-genetic studies of fatuoid oats with special reference to their origin. Jap. J. Genet. **7**, 49 (1931). — The genetics and cytology of certain cereals. IV. Further studies on fatuoid oats. Jap. J. Genet. **8**, 107 (1933). — The genetic and cytology of certain cereals. VII. Genetical significance of the c-chromosome in hexaploid *Avena*-species. Jap. J. Bot. **7**, 453 (1935). — OEHLKERS, F.: Neue Versuche über zytologisch-genetische Probleme (Physiologie der Meiosis). Biol. Zbl. **57**, 126 (1937). — OHLENDORF, A.: Zytologische Untersuchungen an Weizen-Queckenbastarden. Züchter **22**, 34 (1952). — PARKER, D. R.: Observations on crossing over induced by X-rays in the males of *Drosophila*. Genetics **33**, 304 (1948). — PETO, F. H.: The cytology of certain intergeneric hybrids between *Festuca* and *Lolium*. J. Genet. **28**, 113 (1934). — Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*. II. Cytology of the male parents and F_1 generation. Canad. J. Res., Sect. C **14**, 203 (1936a). — Heat induced tetraploidy in barley. Canad. J. Res., Sect. C **14**, 445 (1936b). — PHILP, J., and C. L. HUSKINS: The cytology of *Matthiola incana* R. Br. especially in relation to the inheritance of double flowers. J. Genet. **24**, 359 (1931). — POPE, W. K.: Comparative cytology of colchicine-induced and open pollinated derivatives of hybrids of *Agropyron trichophorum* with *Triticum durum*,

T. Timopheevi, and *T. macha*. Report of the fifth Western Wheat Conference 1950, 82. — PRAKKEN, R.: A new trisomic *Matthiola*-type. *Hereditas* (Lund.) **28**, 297 (1942). — Studies of asynapsis in rye. *Hereditas* (Lund) **29**, 475 (1943). — RAMAER, H.: Cytology of *Hevea*. *Genetica* **17**, 193 (1935). — RANDOLF, L. F.: Chromosome numbers in *Zea mays* L. Cornell Univ. Mem. **117**, 1 (1928). — REES, H.: Asynapsis and spontaneous chromosome breakage in *Scilla*. *Heredity* (Lond.) **6**, 89 (1952). — RHOADES, M. M.: Cross-over chromosomes in unreduced gametes of asynaptic maize. *Rec. Genet. Soc. Amer.* **1946**, No 15, 64. — RICHARDSON, M. M.: Meiosis in *Crepis* II. Failure of pairing in *Crepis capillaris* L. WALLR. *J. Genet.* **31**, 119 (1935). — RILEY, H. P., and N. GILES: The effect of oxygen on the frequency of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia* microspores. *Genetics* **35**, 131 (1950) (Abs.). — ROSENDAHL, G.: Zytologische Untersuchungen an tetraploiden Gersten. *Kühn-Arch.* **60**, 238 (1943/44). — SAFEHIN, L. A.: The genes of reduction division. *Bull. Appl. Bot. Genet. a. Plant-Breed* (5) **2**, 5 (1933). — SAX, H. J., and K. SAX: Chromosome structure and behavior in mitosis and meiosis. *J. Arn. Arb.* **16**, 423 (1935). — SAX, K.: Variation in chiasma frequencies in *Secale*, *Vicia* and *Tradescantia*. *Cytologia* **6**, 289 (1935). — SEARS, E. R.: Nullisomics in *Triticum vulgare*. *Genetics* **26**, 167 (1941a). — Chromosome pairing and fertility in hybrids and amphidiploids in the *Triticinae*. *Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Stat.* **1941b**, No 337, 1. — Cytogenetic studies with polyploid species of wheat. II. Additional chromosomal aberrations in *Triticum vulgare*. *Genetics* **29**, 232 (1944). — The cytology and genetics of the wheats and their relatives. *Adv. Genet.* **2**, 239 (1948). — SMITH, L.: Cytogenetic studies of *Triticum monococcum* and *T. aegilopoides*. (Abs.) *Amer. Naturalist* **70**, 66 (1936a). — Cytogenetic studies in *Triticum monococcum* and *T. aegilopoides*. *Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Stat.* **1936b** No 248, 1. — Haploidy in Einkorn. *J. Agricult. Res.* **73**, 291 (1946). — SOOST, R. K.: Comparative cytology and genetic of asynaptic mutants in *Lycopersicum esculentum* MILL. *Genetics* **36**, 410 (1951). — STRAUB, J.: Polyploidieauslösung durch Temperaturwirkungen. (Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der reproduktiven Phase von *Gasteria*.) *Z. Bot.* **34**, 386 (1939b). — SWANSON, C. P.: X-ray and ultraviolet studies on pollen tube chromosomes. I. The effect of ultraviolet (2537 Å) on X-ray-induced chromosomal aberrations. *Genetics* **29**, 61 (1944). — TAKAGI, F.: Karyogenetical studies on rye. I. A trisomic plant. *Cytologia* **6**, 496 (1935). — THOMPSON, D. L., and J. E. GRAFUS: Cytological observations of the F₁ and two backcross generations of *Triticum vulgare* × *Agropyron trichophorum*. *Agricult. J.* **42**, 298 (1950). — THOMPSON, W. P.: The genetics and cytology of dwarf wheat. *Trans. Roy. Soc. Canada* **22**, 335 (1928). — UPCOTT, M.: The cytology of triploid and tetraploid *Lycopersicum esculentum*. *J. Genet.* **31**, 1 (1935). — The nature of the tetraploidy in *Primula kewensis*. *J. Genet.* **39**, 79 (1939a). — VAARAMA, A.: Cases of asyndesis in *Matricaria inodora* and *Hyoscyamus niger*. *Hereditas* (Lund.) **36**, 342 (1950). — WALTERS, M. S.: Spontaneous chromosome breakage and atypical chromosome movement in meiosis of the hybrid *Bromus marginatus* × *B. pseudolaevipes*. *Genetics* **37**, 8 (1952). — WHITE, M. J. D.: The influence of temperature on chiasma frequency. *J. Genet.* **29**, 203 (1934). — WIEBALCK, U.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. XI. Reifeteilung und Kohlenhydratspiegel der Pflanze. *Z. Bot.* **36**, 161 (1940/41). — YAMAMOTO, Y.: Reifungsteilungen bei einer asynaptischen Pflanze von *Rumex acetosa* L. (Deutsche Zusammenfassung.) *Bot. Zool.* **2**, 1160 (1934). — Ein haplo-diploides Zwillingspaar bei *Triticum vulgare* VILL. *Bot. Mag.* **50**, 573 (1936). — YAMASAKI, Y.: Cytological studies on haploid wheat plants. *Jap. J. Genet.* **11**, 314 (1935). — Some observations on the microsporogenesis of the haploid plant of *Triticum vulgare* Host. *Jap. J. Bot.* **8**, 151 (1936). — YOST, jr., H.: The frequency of X-ray induced chromosome aberrations in *Tradescantia* as modified by near infrared radiation. *Genetics* **36**, 176 (1951). — ZERN, K.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. IV. *Z. Bot.* **30**, 577 (1937a). — Die Bedeutung der Plastiden für den Ablauf der Meiosis. (Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. IX.) *Jb. wiss. Bot.* **85**, 706 (1937b). — Physiologie der Meiosis. X. Neue Beiträge zur Kenntnis des Einflusses der Plastiden auf den Ablauf der Meiosis. *Z. Bot.* **34**, 273 (1939).

Dr. HORST GAUL, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Voldagsen über Elze.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung Voldagsen über Elze (Hannover).

VERSUCHE ÜBER DIE URSACHEN DER PLASMON-UMKOMBINATION.

Von

P. MICHAELIS.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Januar 1954.)

I. Einleitung.

Bei verschiedenen *Epilobium hirsutum-parviflorum*-Bastarden konnten zahlreiche Plasmonabänderungen ausführlich untersucht werden (MICHAELIS 1949, 1954a), die durch eine Umkombination der plasmatischen Erbkomponenten im *Epilobium hirsutum*-Plasma entstanden. Diese Plasmon-Umkombination ist von größtem theoretischem Interesse, da die Untersuchung der Plasmon-Umkombination die wichtigste Methode ist, die Summe der plasmatischen Erbträger, das Plasmon, zu analysieren und in seine Komponenten aufzugliedern. Sie entspricht in ihrer Bedeutung der Mendel-Analyse des Genoms.

Es ist eine überraschende Tatsache, daß Plasmone, die sich in jahrelangen Untersuchungen als völlig stabil und konstant erwiesen, in den *Ep. hirsutum-parviflorum*-Bastarden eine ungewöhnlich hohe Plasmon-Umkombination zeigen. Es wäre von größtem Interesse, die Ursache dieses Instabilwerdens kennenzulernen, da dann die Hoffnung besteht, experimentellen Einfluß auf die Umkombination zu nehmen und eventuell auch bei anderen Objekten eine solche Plasmon-Umkombination zu erzwingen.

Auf Grund unserer bisherigen Erkenntnisse (MICHAELIS 1950) können für die Plasmon-Umkombination verschiedene Ursachen verantwortlich sein. Sie kann spontan erfolgen oder die Folge einer Plasmamischung bei der Befruchtung sein. Die bisher durchgeführten Versuche ließen eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten noch nicht zu. Die Experimente zeigten nur ganz allgemein, daß die Plasmon-Umkombination ein sehr komplexer Vorgang ist, auf den die verschiedensten Faktoren Einfluß nehmen können. Es war aber bisher nicht möglich gewesen, diese Faktoren genauer zu definieren.

In den Versuchen der letzten Jahre ist nun eine Anzahl Beobachtungen gemacht worden, die zur Beurteilung dieser Probleme wichtig ist. Sie seien hier kurz zusammengestellt, auch wenn sie die Probleme noch nicht restlos klären.

II. Ist die Plasmon-Umkombination die Folge einer Mischung väterlichen und mütterlichen Plasmas bei der Befruchtung?

Eine Plasmon-Umkombination ist bisher nur innerhalb des Plastoms untersucht worden und trat dort entweder im Gefolge einer Plastidenmutation oder einer Mischung von Plastiden infolge Übertrittes ♂ Plastiden aus dem Pollenschlauch auf. Da auch bei *Epilobium* ein Plastidenübertritt aus dem Pollenschlauch vorkommt (MICHAELIS 1935), so war es das nächstliegende, die Plasmon-Umkombination durch eine Plasmamischung zu erklären (MICHAELIS 1949). Einzelne Beobachtungen schienen eine solche Deutung zu bestätigen.

Es ist bekannt, daß die Reziprokenunterschiede sich verstärken, wenn plasmafremde Gene in das Plasma eingelagert werden. Es wurde daher in die verschiedenen durch Umkombination entstandenen Plasmotypen des *hirs.* \times *parv.*-Bastardes einerseits ein *parviflorum*- und andererseits ein *hirsutum*-Kern eingelagert. Dabei verstärkte sich der Ausprägungsgrad einzelner Plasmotypen bei Kreuzung mit *Ep. hirsutum*, bei anderen Plasmotypen bei Kreuzungen mit *Ep. parviflorum*. Es paßten also die neuen Plasmonkombinationen teils besser zum *hirsutum*-, teils besser zum *parviflorum*-Kern, und man könnte das durch einen



Abb. 1. *Ep. hirsutum* Essen ♀ \times *parviflorum* Tübingen ♂-Bastard. Drei gleich alte *albomaculata*-Pflanzen verschiedenen Hemmungsgrades. Rechte Pflanze schwach gehemmt, schwächer vergrößert als die linken zum Teil sehr stark gehemmten Pflanzen.

größeren Entmischungsanteil an *parviflorum*-Plasma, bzw. *hirsutum*-Plasma erklären. Eindeutig ist dieser Schluß jedoch nicht, da beide Arten einander systematisch sehr nahestehen und wohl aus einer gemeinsamen Wurzel entstanden sind. So können daher in *Ep. hirsutum* sehr wohl noch Plasmaanteile vorhanden sein, die denen von *Ep. parviflorum* entsprechen.

Der Annahme, daß eine Plasmamischung der Plasmon-Umkombination vorausgeht, steht andererseits entgegen, daß nach den bisherigen Erfahrungen bei *Epilobium* ein Plastidenübertritt aus dem Pollenschlauch sehr selten ist (in *hirs.*-Sippen-Kreuzungen 0,018—0,22%). Die Plasmon-Umkombination beim *hirs.* \times *parv.*-Bastard ist aber so häufig, daß man bei einem kausalen Zusammenhang zwischen Plasmon-Umkombination und Plasmamischung verlangen müßte, daß fast bei jeder Befruchtung Pollenschlauchplasma in die Eizelle übertritt. Bei Kreuzungen von *Ep. hirsutum* ♀ mit Pollen von Blüten weißer Sektoren von paralbomaculaten *parviflorum*-Pflanzen trat aber unter 247, bei einer Versuchswiederholung unter 835 aufgezogenen Pflanzen, keine einzige Schecke auf.

Es ließ sich also keinerlei Plastidenübertritt nachweisen. Man könnte die Theorie einer Plasmamischung als Ursache der Plasmon-Umkombination nur durch

die Annahme retten, daß sich im *hirs.* \times *parv.*-Bastard väterliche Plastiden und väterliches Plasma trennen und daß Gewebeteile mit nicht ergrünungsfähigen Plastiden in dem sehr stark gestörten Bastard vorzeitig ausfallen und nur Gewebe mit väterlichem Plasma erhalten bleibt. In neueren Versuchen, in denen *Ep. hirsutum* mit radioaktiven Isotopen behandelt wurde, traten unter den *parviflorum*-Bastarden dieser behandelten Pflanzen (*hirs.* Essen_{Is.} ♀ \times *parv.* ♂) und unter den Kontrollpflanzen 7mal Pflanzen auf, an denen völlig unabhängig vom Störungsgrad weiße Sektoren vorkamen (Abb. 1), wohl als Folge von Mutationen. Es sind also chlorophyllose Gewebeteile auch im *hirs.* \times *parv.*-Bastard durchaus lebensfähig. Damit scheidet die Hypothese einer Plasmamischung zur Erklärung der Plasmon-Umkombination aus. Das *hirs.* Essen-Plasma ist auch ohne vorherige Plasmamischung einer Umkombination zugänglich.

Damit stimmt überein, daß 1953 erstmalig eine *hirsutum*-Essen-Pflanze gefunden wurde, die ohne Bastardierung und ohne eine besondere Behandlung die sonst nur am *hirs.* Essen \times *parv.* Tübingen-Bastard aufgefundenen *irregulare*- und *poliogramma*-Abänderungen zeigte (Abb. 2). Eine solche spontane Abänderung ist aber außerordentlich selten. Bisher sind in den verschiedenen Jahren 1061 unbehandelte und 19401 mit verschiedenen mutagenen Agentien behandelte *hirs.* Essen-Pflanzen aufgezogen worden, bis die erwähnte Pflanze in einer Kontrolle eines Mutationsversuches gefunden wurde. Im *hirs.* Essen \times *parv.* Tübingen-Bastard müssen also Bedingungen vorliegen, die die Plasmon-Umkombination wesentlich begünstigen.

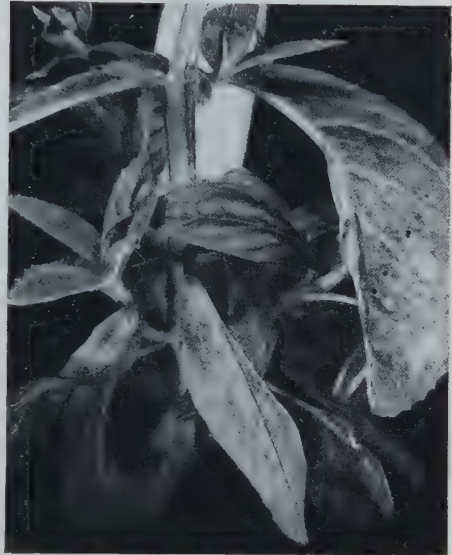


Abb. 2. Unbehandelte *Ep. hirsutum* Essen-Pflanze. In einem Sektor traten erstmalig die für den Plasmotyp *irregulare* des *Ep. hirsutum* Essen ♀ \times *parviflorum* Tübingen ♂-Bastardes kennzeichnenden Blattdefekte auf (Blatt rechts oben). Aus dem Plasmotyp *irregulare* entsteht häufig der Plasmotyp *poliogramma*. Die für *poliogramma* kennzeichnende Streifung ist auf dem mittleren Blatt unten zu erkennen.

III. Der Einfluß des Genotyps auf die Plasmon-Umkombination.

Die Tatsache, daß eine häufige Abänderung des *hirs.* Essen-Plasmas nur in Artbastarden erfolgt, ließ darauf schließen, daß an der Auslösung der Umkombinationsvorgänge der Bastardgenotyp wesentlich beteiligt ist. Der Einfluß des Genotypus kann dabei ein sehr verschiedener sein. Er kann einesteils indirekt einwirken, denn Plasmonabänderungen sind bisher nur an stark gestauchten, nicht aber an schwach gehemmten oder normalwüchsigen *hirs.* Essen bzw. Jena \times *parv.*-Sippen-Bastarden gefunden worden. Andererseits muß das *parviflorum*-Genom aber auch einen mehr direkten Einfluß ausüben, da auch *hirs.* Essen bzw. Jena \times *hirs.*-Sippen-Bastarde nicht abändern, die den gleichen Stauchungsgrad besitzen wie die abändernden Artbastarde.

Dieser vermutete Einfluß des Genotyps ließ sich nun genauer untersuchen. Um den Einfluß des Plasmons auf die Genmanifestation zu prüfen (MICHAELIS 1951), wurden bei *Ep. parviflorum* experimentell Genmutanten durch Röntgenbestrahlung und Behandlung mit radioaktiven Isotopen hergestellt (MICHAELIS 1953) und in das *hirs.* Essen-Plasma eingelagert. An den so entstandenen *hirs.* Essen \times *parv.* Tübingen_{mut}-Bastarden wurde nun neben der Manifestation der mutierten Kerngene auch die Rate der Plasmonabänderungen untersucht. Es seien einzelne interessantere Fälle geschildert:

Zwei *parviflorum*-Mutanten veränderten den Wuchs des *hirs.* Essen- \times *parv.* Tübingen-Bastardes und ebenso auch die Abänderungsrate in auffälliger Weise.



Abb. 3. Pikierkästen mit ausgewachsenen *Ep. hirsutum* Essen ♀ \times *parviflorum* Tübingen ♂-Bastarden, wobei in den verschiedenen Nummern verschiedene *parviflorum*-Genmutanten mit *hirsutum* ♀ gekreuzt wurden. Die meisten Mutanten gaben ungefähr gleich große in typischer Weise gestörte Zwergbastarde, nur der Bastard mit *parviflorum resistens* fällt durch seine geringe Hemmung aus dem Rahmen (rechts oben).

Die eine Mutante bedingt Mehlttauresistenz (*resistens* = *res*). Sie ist dominant und dementsprechend sind die *hirs.* \times *parr._{res}*-Bastarde ebenfalls mehlttauresistent. *Parv._{res}* verändert in der Entstehungssippe *parviflorum* und im *parv._{res}* ♀ \times *hirs.* Essen ♂-Bastard den Wuchs nicht in nennenswertem Maße. Im *hirs.* Essen ♀ \times *parv.* Tübingen ♂-Bastard werden die *resistens*-Bastarde aber 13,3 cm statt 1,5 cm hoch (Abb. 3). Die Entwicklungsstörungen werden also weitgehend beseitigt. Die Rate der im nächsten Frühjahr entstehenden Plasmonabänderungen ist übernormal hoch, und es entsteht in überwiegendem Maße die Plasmonabänderung *contractum* (vgl. Tabelle 3, S. 118).

Eine zweite Mutante (*normalisatum* = *n*) ist weder in der Entstehungssippe noch im *parv.* ♀ \times *hirs.* ♂-Bastard von den Kontrollen zu unterscheiden (Tabelle 1). Im *hirs.* ♀ \times *parv.* ♂-Bastard führt sie wie bei der *resistens*-Mutante zu einer weitgehenden Beseitigung der Entwicklungsstörungen (Abb. 4). Auch hier wird die Rate der Plasmonabänderungen erhöht (Tabelle 2).

Tabelle 1. Durchschnittliche Höhe.

Kreuzung mit <i>parviflorum</i>	<i>parviflorum</i>		<i>parviflorum</i> ♀ × <i>hirsutum</i> ♂		<i>hirsutum</i> ♀ × <i>parviflorum</i> ♂	
	n	cm	n	cm	n	cm
+/+ . . .	150	42,53	195	19,51	519	4,37
+/n . . .	170	41,09	63	19,92	326	9,70
n/n . . .	33	42,27	12	19,58	41	12,20

Da der Hemmungsgrad des *hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂-Bastards stark von den verschiedensten Umweltsbedingungen abhängt, so zeigten sowohl die

hirs. × *parv.*_n wie die *hirs.* × *parv.*₊-Bastarde eine hohe Variabilität. Prüft man nun die Häufigkeit der im folgenden Jahr entstehenden Plasmonabänderungen in Abhängigkeit zu der Höhe, die die Bastardpflanzen in der vorhergehenden Vegetationsperiode be-
saßen, so läßt sich eine Zunahme der Abänderungsrate mit der Pflanzenhöhe feststellen, die bei den *hirs.* × *parv.*_n, *hirs.* × *parv.*₊ und *hirs.* × *parv.*_n-Bastarden ungefähr gleich groß ist (Abb. 5a).

Hier-

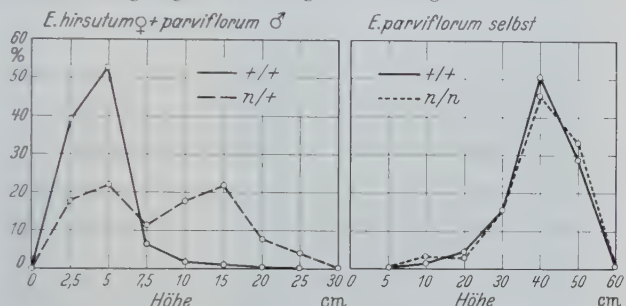


Abb. 4. Kurven der Höhenmessungen. Rechte Kurve Höhenmessungen der *parviflora* — = +/+, - - - - - = n/n, linke Kurve Messungen des *hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂-Bastardes — = +/+, - - - - - = n/+.

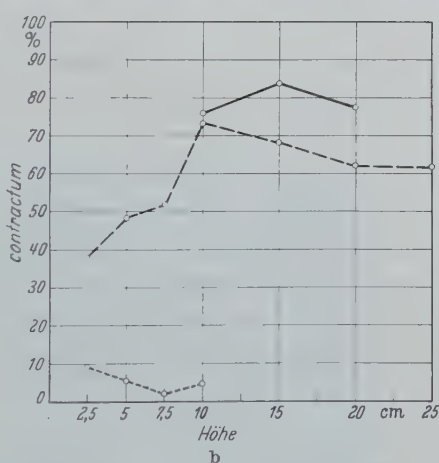
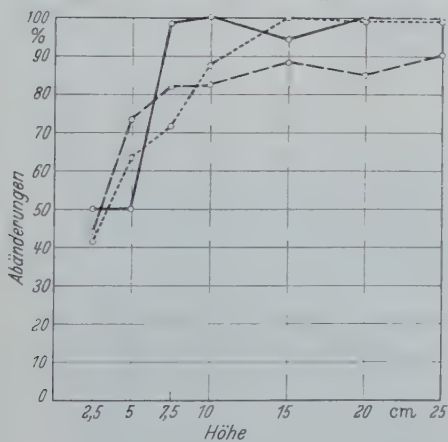


Abb. 5a u. b. Anzahl der Abänderungen (a) bzw. der Abänderung *contractum* (b) in Abhängigkeit von der Höhe, die der *hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂-Bastard in der vorhergehenden Vegetationsperiode erreichte. — = n/n, - - - - - = n/+, = +/+.

aus läßt sich entnehmen, daß das Gen *parv.*_n nicht direkt die Abänderungshäufigkeit beeinflusst, sondern daß es direkt nur den Höhenwuchs verändert, der nun seinerseits die Abänderungsrate beeinflusst.

Gleichzeitig ist die Qualität der einzelnen Abänderungen sehr stark verändert. Die Häufigkeit des Plasmotyps *contractum* steigt von rund 6—10% auf rund 70%,

und dementsprechend sinkt der prozentuale Anteil der übrigen Abänderungen (Tabelle 3). Berechnet man die Häufigkeit der übrigen Abänderungen getrennt, so läßt sich weiterhin eine Zunahme der *irregulare*- und *adaequatum*-Abänderungen, eine Abnahme der *vernica* feststellen (Tabelle 2). Die Häufigkeiten der übrigen Abänderungen zeigen bei dieser Berechnungsart keine gesicherten Unterschiede. Bei diesen qualitativen Verschiebungen läßt sich im Gegensatz zu der Gesamthäufigkeit der Abänderungen kein größerer Einfluß des Höhenwuchses (Abb. 5b) nachweisen, so daß hier der *parv.*-Genotyp auf einem anderen Wege den Abänderungsvorgang beeinflussen dürfte.

Tabelle 2.

	Pflanzen- zahl	Davon 6. 1953 abgeändert %	Zahl der Abände- rungen	<i>contractum</i> %	<i>irregulare</i> % ¹	<i>adaequatum</i> % ¹	<i>vernicosum</i> % ¹
+/+	519	47,8	393	9,7	15,2	13,2	19,2
+/n	326	74,7	240	72,1	21,9	17,2	7,8
n/n	41	97,6	46	67,4	33,4	27,0	6,4

¹ Bezogen auf die Summe der Abänderungen ohne *contracta*.

Diesen beiden Beispielen läßt sich ein drittes anschließen. In der Nachkommenschaft ($n = 50$) einer röntgenbestrahlten *parviflorum*-Pflanze waren 12 kleine, im Laufe des Frühsommers eingehende Pflanzen (= *parv.*) enthalten. Bei der Kreuzung *hirsutum* \times *parviflorum*₊ 1 waren von 159 Bastardpflanzen 82 etwas kleiner als die übrigen (Abb. 6a). Im folgenden Jahre zeigten bei der Durchsicht im Mai beide Typen eine verschiedene Abänderungsrate. An den *hirs.* \times *parv.*-Pflanzen waren 72,4% der Pflanzen gegenüber 27,0% bei den *hirs.* \times *parv.*₊-Pflanzen abgeändert, und unter den Abänderungen 30,0% statt 10,0% der starkwüchsigen Abänderungen *adaequatum* und *vernicosum* vorhanden. Als aber im Juli dieselben Nummern nochmals protokolliert wurden, war die Zahl der abgeänderten Pflanzen auf 82,3% und 87,3% gestiegen und auch die Zahl der einzelnen Abänderungstypen ungefähr gleich häufig geworden. Die Höhe der einzelnen Abänderungen war allerdings noch sehr verschieden und glich sich auch im Laufe des Sommers (Abb. 6b) nicht mehr aus. Hier scheint also in Abhängigkeit vom Wuchs des Vorjahres der Zeitpunkt für das Erscheinen der Abänderungen sehr verschieden zu sein, ohne daß ein wirklicher Unterschied in der Abänderungsrate vorzuliegen braucht. Je nach dem Zeitpunkt der Versuchsdurchsicht können aber solche Unterschiede vorgetäuscht werden. Es bleibt dabei allerdings offen, ob die bei beiden Genotypen als *adaequata* klassifizierten Plasmotypen einander wirklich plasmonisch identisch sind.

In den bisher beschriebenen Fällen ist die Veränderung der Abänderungshäufigkeit nicht besonders überraschend, da sich der Wuchs der Bastarde von dem der gleichartig behandelten Kontrollen mehr oder minder unterschied. Insgesamt wurden in diesen Versuchen über die Beeinflussung der Genmanifestation durch das Plasmon 40 mehr oder weniger sichere und einige weitere fragliche *parviflorum*-Genmutanten in das *hirs.* Essen-Plasma eingelagert. Bis auf die oben beschriebenen Mutanten waren die Mutanten rezessiv und veränderten auch den *hirs.* \times *parv.*-Bastard nicht in wesentlicher Weise. Abb. 3 zeigt neben dem starkwüchsigen Bastard mit der *parviflorum*-Sippe *resistens* eine Anzahl solcher

sich im *hirsutum*-Bastard nicht manifestierender Mutanten. Nur bei einem Teil der Kombinationen war die Zahl der aufgezogenen Pflanzen so groß, daß sich einigermaßen sichere Angaben auch über die Abänderungsrate machen lassen. Bei 26 Mutanten unterschied sich die Abänderungsrate nicht in erkennbarer Weise von den zum Teil in denselben Kästen befind-



a



b

Abb. 6a. Typische, noch nicht abgeänderte *hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂-Bastarde der Kreuzung *Ep. hirsutum* × *parviflorum* + fl. Oben *hirs.* × *parv.*₁, unten *hirs.* × *parv.*₄-Genotypen. Aufnahme der 10 Wochen alten Pflanzen 1952.

Abb. 6b. Zwei Kästen mit abgeänderten *hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂-Bastarden, vorne *hirs.* × *parv.*₄ mit wenig Abänderungen verschiedener Art, hinten *hirs.* × *parv.*₁ mit vielen Abänderungen. Die hochwüchsigen *adaequata* überwuchsen die weniger wüchsigen Abänderungen des Kastens. Aufnahme August 1953.

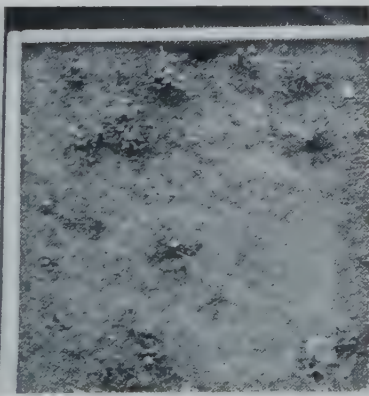


Abb. 7. Verschiedene Abänderungshäufigkeit bei ursprünglich völlig gleichen *hirsutum* × *parviflorum*-Bastarden unter gleichen Bedingungen in Abhängigkeit von bestimmten rezessiven *parviflorum*-Genotypen. Aufnahme im Winter zu einer Zeit, in der der nicht abgeänderte Bastard nur kleine am Wurzelhals der abgeschnittenen Sprosse sitzende Überwinterungsknospen besitzt (rechts), Kasten links mit besonders vielen Abänderungen.

lichen Kontrollen, insgesamt bei 14 Mutanten war aber die Abänderungsrate deutlich verschieden (Abb. 7), zum Teil in sehr auffälliger Weise in bezug auf die

Tabelle 3. Die Abänderungsfähigkeit des *Epilobium hirs.* ♀ × *parv.* ♂-Bastardes bei Verwenden verschiedener *parviflorum*-Genotypen.

<i>Ep.hirsutum</i> Essen ♀ × <i>parviflorum</i> Tübingen ♂ Aussaat 1952			Abänderungen Juli 1953							
	Ab- ge- änderte Pflanzen		con- fractum	macro- dontum	verni- cosum	cicatri- cosum	rhyti- dio- phyl- lum	longi- folium	ad- aequa- tum	trans- forma- tum
	n	%	%	%	%	%	%	%	%	%
<i>resistens</i>	23	100,0	78,6	0	10,7	10,7	0	0	0	0
<i>normalisatum</i> +/n	326	74,7	72,1	4,6	3,8	1,2	1,7	3,3	4,6	0
<i>flavoviridis</i>	293	72,0	0	2,6	23,6	13,1	4,6	11,1	28,8	0
<i>mut. 1</i>	168	53,6	1,7	16,0	15,9	16,0	5,0	5,0	21,8	0
<i>aureum</i>	692	45,9	0,3	17,3	18,5	11,8	9,4	5,8	24,5	1,2
Kontrolle	1201	36,7	6,1	17,7	18,6	8,7	4,0	8,1	19,1	0,5
<i>albidum</i>	191	39,3	6,8	15,5	8,7	12,6	9,7	9,7	15,5	1,9
<i>deciduum</i>	140	36,4	34,9	18,3	0,9	6,4	8,3	11,0	9,2	0
<i>flavocostatum</i>	416	35,1	0	18,5	20,0	8,3	4,8	9,0	21,5	0,6
Eizellen-letal 1	432	33,8	6,0	18,9	18,9	10,1	6,9	6,9	2,3	13,8
<i>mut 3</i>	555	31,9	2,4	8,1	14,8	11,0	9,1	15,8	22,5	0
<i>mut 2</i>	521	27,6	1,9	12,9	23,9	12,3	2,6	9,0	20,6	0
Eizellen-letal 2	217	25,7	9,4	19,7	15,2	16,3	5,8	9,9	13,4	0
<i>angustifolium</i>	224	23,7	3,4	10,1	24,7	12,4	2,2	9,0	24,8	0
<i>mut 4</i>	53	14,3	41,7	0	8,3	0	0	0	50,0	0

Die gegenüber der Kontrolle durch den 3fachen mittleren Fehler gesicherten Werte sind kursiv gedruckt.

Gesamtzahl der Abänderungen, zum Teil ergaben sich aber auch Unterschiede in der Art der Abänderungen. Die Abänderungen mit gesicherten Unterschieden sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Die Versuche bestätigen also in eindeutiger Weise, daß das Genom in wesentlicher Weise die Plasmon-Umkombination beeinflusst, sei es indirekt über eine Änderung des Gesamtwuchses, sei es wie bei den rezessiven Mutanten über eine nicht genauer bekannte, wohl nicht sehr erhebliche Veränderung der Zellphysiologie. Unter solchen Bedingungen ist es verständlich, daß die Plasmon-Umkombination in größerer Häufigkeit bisher nur bei den *hirs.* × *parv.*-Bastarden gefunden wurde, während sie in den *hirsutum*-Sippenkreuzungen fehlte, auch wenn diese ähnliche Störungen besaßen wie die Artbastarde. In diesen *hirsutum*-Sippenkreuzungen bleibt die Stabilität des Plasmons erhalten, da sich hier das genetische System offenbar noch besser im Gleichgewicht befindet.

IV. Der Einfluß der Umwelt auf die Umkombination.

Die meisten Plasmonabänderungen entstehen erst nach Ablauf einer Vegetationsperiode zu Beginn des Winters und zwar aus den Überwinterungsknospen, d. h. aus ruhenden Knospen, die in den Achseln der im Frühjahr gebildeten Rosettenblätter angelegt werden. Um zu prüfen, ob schon zu diesem frühen Zeitpunkt die Plasmonabänderungen entstehen und erst mit dem Austreiben dieser Achselprosse sichtbar werden, wurden 12 zwei Monate alte Zwergpflänzchen des *hirs.* × *parv.*-Bastardes im Mai in ihre einzelnen Knoten zerlegt und diese zur Bewurzelung gebracht (im Durchschnitt 4 Stecklinge je Pflanze). Sowie die Stecklinge sich bewurzelt hatten und Seitensprosse bildeten, wurden diese wieder in die einzelnen Knoten zerlegt und auf solche Weise bis Juli 4 Stecklingsgenerationen aufgezogen. Auf diese Weise wurden nicht nur sämtliche Achsel-

sprosse zum Austreiben gezwungen — auch die der Cotyledonen — es wurde auch die Bildung zahlreicher Serialknospen angeregt. Im Durchschnitt konnten 43,3 Stecklinge aus den sonst nur 2—3 cm hoch werdenden Zwergpflänzchen gewonnen werden. 370 dieser Stecklinge lebten noch zu Beginn des Winters. Sämtliche Stecklinge waren in typischer Weise gestört. Plasmonabänderungen entstanden erst sehr verspätet im Frühjahr des folgenden Jahres und auch dann nur an 4% (Kontrolle 60%) der Pflanzen. Dieser Versuch zeigt, daß die normalerweise im Herbst auftretenden Plasmonabänderungen nicht mit der Anlage der entsprechenden Triebe entstehen, sondern in diesen erst im Laufe der Zeit gebildet werden und daß kontinuierliches Wachstum die Bereitschaft zur Bildung von Plasmonabänderungen verringert.

In früheren Veröffentlichungen war schon eine Beeinflussung der Umkombination durch die Umwelt, insbesondere durch die Temperatur vermutet worden, da in einem Falle die Herbstaussaat der besonders leicht abändernden *hirs.* Jena \times *parv.*-Bastarde schon im Juni des ersten Sommers, die übliche Frühjahrsaussaat erst nach Ablauf des nächsten Winters abänderte (MICHAELIS-ROSS 1943). Eine Wiederholung des Aussaatzeitversuches beim *hirs.* Essen \times *parv.*-Bastard ergab keine vorzeitige Entstehung von Plasmonabänderungen. Auch eine experimentelle Behandlung normaler Aussaaten mit niederen Temperaturen während des Frühlommers zeigte nur eine schwache Wirkung (MICHAELIS 1949). Andererseits war die Häufigkeit des mit denselben Klonen hergestellten *hirs.* Essen \times *parv.*-Bastardes in den einzelnen Jahren sehr verschieden (Tabelle 4).

Tabelle 4.

Aus- saat	<i>hirsutum</i> \times <i>parviflorum</i> 5	Zahl der Abänder- ungen	Fragliche oder neue Abänder- ungen %	<i>ad- acqua- tum</i> %	<i>vern- cosum- Gruppe</i> %	<i>steno- phyl- lum- Gruppe</i> %	<i>irregu- lare- Gruppe</i> %	<i>rhyti- dio- phyl- lum</i> %
1950/1	Kontrolle	179	11,7	36,8	22,3	10,1	8,4	7,8
	Durch X-Bestrahlung erhaltene <i>parviflo- rum</i> -Mutanten . .	837	9,3	37,8	25,4	10,1	6,6	9,4
1952/3	Kontrolle	554	15,4	19,6	45,0	4,2	10,3	4,0
	Durch X-Bestrahlung 1950 erhaltene <i>par- viflorum</i> -Mutanten (zum Teil dieselben wie 1950/51) . . .	3464	21,4	18,5	40,4	3,1	9,7	5,5

Die durch den 3fachen mittleren Fehler der Differenz gesicherten Werte sind kursiv gedruckt.

Zu diesem Thema liegen nun einige weitere Beobachtungen mehr zufälliger Art vor, die den großen Einfluß der Umwelt erkennen lassen, ohne daß es allerdings möglich wäre, diesen Einfluß ganz genau zu präzisieren.

Bei der oben genannten *resistens*-Mutante wurde zur nochmaligen Überprüfung der Resistenz ein Teil der *hirs.* \times *parv.*_{res}-Pflanzen von Oktober 1952 bis April 1953 in eine warme Infektionskabine gestellt, während der Rest der Pflanzen mit den übrigen Bastarden aus dem Mutationsversuch in einem nicht geheizten Haus standen. Während die Pflanzen des Kalthauses in einem hohen Prozentsatz, die *resistens*-Bastarde sogar zu 100% (Tabelle 3) abänderten, blieben

die der Infektionskabine konstant (Abb. 8) und zeigten erst im Winter des folgenden Jahres 1953/54 Abänderungen. Aus den Beobachtungen ist zu entnehmen, daß der Abänderungsvorgang bei den Pflanzen des Kalthauses erst nach dem Oktober einsetzte und sehr rasch zur Bildung der abgeänderten Triebe führte.

In einem anderen Versuch wurden *hirs. × parv.*-Bastarde von Mai bis August in einem tagsüber (14 Std) künstlich beleuchteten Thermostaten bei 28° gezogen und die Temperatur langsam auf 40° gesteigert. Ein zweiter Teil von Pflanzen stand nur nachts (nicht beleuchtet) in demselben Thermostaten und während des Tages bei Zimmertemperatur an einem Südfenster. 90% der Pflanzen der Dauerbehandlung bildeten zahlreiche Abänderungen, wobei der starkwüchsige Plasmostyp *adaequatum* 46% aller Abänderungen bildete, eine Häufigkeit, wie sie sonst nicht gefunden wird. Die Pflanzen, die nur nachts im Thermostaten verblieben waren, bildeten weder in dem zunächst folgenden Winter 1952/53, noch im Winter 1953/54 Abänderungen (Tabelle 5, Abb. 9 und 10).



Abb. 8. Zwei Pikierkästen des *Ep.-hirsutum × parviflorum-rostensis*-Bastardes, hinterer Kasten bei Kultur im kalten, vorderer Kasten bei Kultur im warmen Gewächshause.

Alle diese Versuche zeigen eindringlich, daß die Plasmon-Umkombination ein außerordentlich komplexer Vorgang ist, daß wahrscheinlich die Vermehrung der Plasmonkonstituenten und ihre Verteilung bei den Zellteilungen von dem physiologischen Zustand der einzelnen Zellen abhängig sind und daß damit sowohl Umwelt wie Genotyp die Zahl und Qualität der entstehenden neuen Plasmon-Umkombinationen beeinflussen können.

Um bei den weiteren Versuchen keinen Fehler durch Temperaturschwankungen zu erhalten, wurden die Pflanzen der 1952 und 1953 durchgeführten Behandlungsversuche möglichst lange in einem Thermostaten bei 25° und Dauerlicht gehalten. Merkwürdigerweise bildeten gerade die Pflanzen dieser Versuchsreihen unabhängig von der Behandlung schon während des ersten Sommers gemeinsam mit den im Thermostat stehenden Kontrollen Plasmonabänderungen. In einem dieser Versuche wurde eine ähnliche Stecklingsvermehrung durchgeführt, wie sie schon S. 108 beschrieben wurde. Es zeigte sich, daß die unmittelbar in den Achseln der Cotyledonen sich entwickelnden Seitensprosse alle typisch gestört waren.

Fehler durch Temperaturschwankungen zu

Tabelle 5. Abänderungshäufigkeit des *hirsutum × parviflorum*-Bastardes (Juli 1953).

	30. 5. bis 24. 6. 52 %	30. 5. bis 20. 8. 52 %	30. 5. bis 20. 10. 52 %
Dauerbehandlung mit hohen Temperaturen . .	90,4	90,9	—
Hohe Temperaturen nur nachts	—	20,0	0

Bei den Stecklingen der nächsten 1—4 Internodien erfolgte ein rascher Anstieg der Abänderungsrate (Tabelle 6). Die Plasmonabänderung setzt also sehr früh, schon während des Wachstums unter den konstanten Bedingungen des Thermostaten ein. Welches der entscheidende Faktor für diese ungewöhnlich frühe Plasmon-Umkombination ist, läßt sich noch nicht entscheiden, um so mehr als sämtliche übrigen bisher durchgeführten Versuche, durch irgendwelche Behandlung der Pflanzen (Röntgenbestrahlung, verschiedene Zellgifte, Narkotika, Behandlung mit sublethalen Konzentrationen von Säuren, Alkalien, eiweißausfällenden Mitteln) willkürlich Plasmon-Umkombinationen zu erzeugen, erfolglos blieben (MICHAELIS 1954a).



Abb. 9.



Abb. 10.

Abb. 9. Zwei Pikierkästen desselben *hirsutum* × *parviflorum*-Bastardes im Herbst 1953 nach dem Absterben der Sommertriebe. Der hintere Kasten ist vom 30. 5. bis 24. 6. 1952 bei hohen Temperaturen kultiviert worden, der vordere Kasten erhielt vom 30. 5. bis 20. 10. 1952 nur nachts hohe Temperaturen. Der hintere Kasten mit zahlreichen *adaequatum*-Trieben, im vorderen Kasten behielten die Pflanzen ihren typischen Zwergwuchs bei.

Abb. 10. Dieselben Kästen im Dezember 1953 zu einem Zeitpunkt, in dem die Aussaaten 1953 schon zahlreiche Abänderungen gebildet haben (vgl. Abb. 7). Die 1952 nur nachts bei hohen Temperaturen kultivierten Pflanzen bilden auch jetzt noch keine Abänderungen (vorne). Im warm kultivierten Kasten (hinten) die Überwinterungstribe der Plasmonabänderung *adaequatum*.

Tabelle 6. Abänderungsrate (Juni 1953) der vom 26. 1. bis 31. 3. 1953 bei 25° und Dauerlicht abgezogeten *hirs.* *Essen* × *parv.*-Bastarde.

	Zahl der abgeänderten Pflanzen in %	Zahl der abgeänderten Stecklinge in %	Prozentsatz der abgeänderten Stecklinge aus den Achseln des						
			Cotyl.	1.	2.	3.	4.	5.—6.	7.—12.
				Blattwirtels					
Ab 1. 4. durch Stecklinge geteilt (im Durchschnitt 10,4 Stecklinge je Pflanze)	55,9	16,0	0	7,7 ¹	11,7	21,6	32,0 ¹	9,7	20,0
Nicht durch Stecklinge vermehrt	75,8								

¹ Nur die Differenz zwischen 1. und 4. Blattwirtel ist signifikant.

Über die Erzeugung von wahrscheinlichen Plasmonmutationen durch radioaktive Isotope wurde schon an anderer Stelle kurz berichtet (MICHAELIS 1954b).

Wahrscheinlich bestehen auch Unterschiede in der Art der Abänderungstypen, doch reicht die Gesamtzahl der erhaltenen Abänderungen (89) nicht für eine statistische Bearbeitung.

Zusammenfassung.

1. Die bei *Epilobium* festgestellte Plasmon-Umkombination ist nicht die Folge einer Mischung von mütterlichem und väterlichem Plasma bei der Befruchtung.
2. Die Plasmon-Umkombination des *Epilobium hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂ Bastardes kann sowohl qualitativ wie quantitativ durch die in die Kreuzung eingeführten *parviflorum*-Genotypen verändert werden, wobei die einzelnen Gene in sehr verschiedener Weise auf die Plasmon-Umkombination einwirken können.
3. Die normalerweise mit Beginn des Winters einsetzende Plasmonabänderung kann durch geeignete Kulturbedingungen völlig verhindert, aber auch vorzeitig induziert werden, wobei den Temperaturverhältnissen eine besondere Bedeutung zukommt.

Summary.

1. The segregation of plasmagenes in *Epilobium* is not the result of the union of female and male cytoplasm during fecundation.
2. The plasmon segregation in the *Epilobium hirsutum* ♀ × *parviflorum* ♂-hybrids can vary quantitatively and qualitatively under the influence of different *parviflorum* genotypes, whereby the different nuclear genes act in different ways.
3. Plasmon alterations normally appearing at the beginning winter can be prevented by suitable temperatures, but can be induced prematurely too.

Literatur.

MICHAELIS, P.: Entwicklungsgeschichtlich-genetische Untersuchungen an *Epilobium*. III. Zur Frage der Übertragung von Pollenschlauchplasma in die Eizelle und ihre Bedeutung für die Plasmavererbung. *Planta* (Berl.) **23**, 486—500 (1935). — Über Abänderungen des plasmatischen Erbgutes. *Z. Vererbungslehre* **83**, 36—85 (1949). — Grundzüge der intra-individuellen Plasmon-Umkombination. *Protoplasma* (Wien) **39**, 260—274 (1950). — Interactions between genes and cytoplasm in *Epilobium*. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **16**, 121—129 (1951). — Über die außerordentlich starke mutagene Wirkung der radioaktiven Isotope P³² und S³⁵ bei *Epilobium*. *Naturwiss.* **40**, 534 (1953). — Cytoplasmic inheritance in *Epilobium* and its theoretical significance. *Adv. Genet.* **6** (1954a). — Über experimentell induzierte vermutliche Plasmonmutationen. *Naturwiss.* **41**, 22 (1954b). — MICHAELIS, P., u. H. ROSS: Untersuchungen an reziprok verschiedenen Artbastarden bei *Epilobium*. II. Über Abänderungen an reziprok verschiedenen und reziprok gleichen *Epilobium*-Artbastarden. *Flora* (Jena) **137**, 24—56 (1943).

P. MICHAELIS, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung,
Voldagsen über Elze (Hannover).

Institute of Animal Genetics, Edinburgh.

SENSITIVITY OF THE *DROSOPHILA* TESTIS TO THE MUTAGENIC ACTION OF X-RAYS.

By

C. AUERBACH.

With 1 figure in the text.

(Eingegangen am 25. Februar 1954.)

Among the peculiarities which characterize the mutagenic action of mustard gas as compared with that of X-rays the pattern of sensitivity in the treated testis has been emphasized (AUERBACH 1950, 1951). After mustard gas treatment of adult *Drosophila* ♂♂ the highest frequency of mutations is obtained from germ cells which at the time of treatment had not yet reached maturity. For X-rays, on the other hand, preferential action on mature sperm had always been claimed (references in MULLER 1954). However, closer analysis of the pertinent radiation experiments revealed that the majority of them had been done by methods which varied in essential points from those used in the comparable mustard gas experiment. In the X-ray work, emphasis had been laid on possible differences in response between mature or near-mature sperm on the one hand, spermatogonia on the other; no attempt had been made to detect possible variations of sensitivity within the later stages of spermatogenesis. It was therefore conceivable that a temporary period of high sensitivity towards the end of spermatogenesis, such as exists for mustard gas, might have been overlooked in the earlier X-ray work and might be brought to light by suitable methods. This, indeed, was found to be so (AUERBACH 1953).

In order to determine more accurately the stage in spermatogenesis when the germ cells are specially sensitive to the mutagenic effects of X-rays, use was made of effects, such as crossing-over, which are limited to certain stages. A pattern of sensitivity in the testis was tentatively developed, with meiosis as the most sensitive stage (AUERBACH 1953); this, however, has had to be revised as a result of the more thorough studies presented below.

Meanwhile, work of a similar nature had been going on in Sweden. It has been summarized in a number of publications by LÜNING (1952a-f). LÜNING, too, finds a stage of high sensitivity prior to the formation of mature sperm. He concludes that germ cells treated during this stage always become available for fertilization between the 6th and 10th day after irradiation and that this results in a period characterized by excessively low egg hatchability, and by a high frequency of chromosomal effects in the living progeny. His conclusions, which in some essential points are at variance with those drawn from the present work, will be discussed after the experimental evidence has been given.

Material and Methods.

A Philips Metalix X-ray tube was used for exposures. It was run at 70 kV and 7 mA, at a dose rate of 180 r/minute, with 0.5 mm Al filtration (HVL = 0.8 mm Al). Doses ranged from 1500 to 3000 r units. The treated ♂♂ belonged

to a wild-type Oregon stock (Oregon-K, OrK), except in the cross-over experiments when F_1 ♂♂ from a cross between OrK and a *b cn vg* (black cinnabar vestigial) stock were used. The age of the ♂♂ at treatment varied between 0 and 4 days; in any one experiment, variation in age between ♂♂ did not exceed 3 days. On the day following treatment the ♂♂ were mated individually to 3 virgin ♀♀ each; subsequently, that were each given 3 new virgin ♀♀ every 3 days, while the old ♀♀ were transferred to a fresh vial in order to produce more progeny. Each experiment consisted of 4 successive mating periods of 3 days each; this resulted in 4 successive broods, labelled *a*, *b*, *c* and *d*. These broods represent successively younger germ cells at the time of irradiation.

Recessive sex-linked lethals were determined by the Muller-5 method, autosomal lethals by the *Cy/L* method. For the detection of crossing-over, recombination between the second-chromosome genes *b*, *cn* and *vg* was used. No hatchability tests were done, but fertility in successive broods was judged roughly by the number of live progeny obtained.

It has been shown by AUERBACH and MOSER (1953a) that the rate at which sperm is being utilized is very sensitive to experimental conditions. In experiments of the kind described here, sperm utilized on a given day or during a given mating period after treatment may be derived from quite different stages of treated germ cells, depending on the genotypes of the treated ♂♂ and their mates, and on the opportunity and stimulus for mating. No conclusions can therefore be drawn from a comparison between experiments which differed in any of these factors. In order to avoid differences in the rate of sperm utilization when comparing the incidence of different induced effects in successive broods, double-purpose tester stocks were made up, which furnished the ♀♀ and allowed the scoring of two effects, e.g. crossing-over and sex-linked lethals, in the progeny of the same parents. These stocks will be described in their proper place.

Results.

Recessive lethals. The first experiment on the frequency of recessive autosomal lethals in successive broods brought spectacular evidence for the existence of a sensitive period during sperm development. 2-day old OrK ♂♂ were exposed to 2000 r. They were mated individually to *Cy/L* ♀♀, and four successive broods *a*, *b*, *c*, *d* were obtained by the usual procedure. A number of ♂♂ died or stopped breeding before the mating scheme was completed. These were excluded from the test, because it is conceivable that for some reason they had differed from

Table 1 (Expt. X 11). *The frequency of recessive lethals on the second chromosome in successive broods from irradiated ♂♂. Dose 2000 r. Brood interval 3 days. Three ♀♀ per brood per ♂.*

	Brood			
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
No. tested chromosomes	412	107	453	445
No. lethals	71	50	24	27
% lethals	17.2	46.7	5.3	6.1
Corrected % lethals ¹	18.8	62.9	5.3	6.1

¹ The correction for the occurrence of more than 1 lethal in the same chromosome was carried out by calculating the mean of the Poisson distribution of lethals from its first member: $e^{-n} = 100\% - \% \text{ observed lethals}$.

the rest, and that inclusion of their progeny in the early, but not the late broods might have biased the result. This reduced the number of tested ♂♂ to 25. The results are shown in Table 1.

The records for individual Pl ♂♂ showed that none of them had been heterozygous for a lethal. Only one was found to carry a lethal on more than one quarter of his tested chromosomes, and cross-tests showed these lethals to be non-allelomorphic.

The excessive sterility of the treated ♂♂ during the second mating period permitted only a small number of progeny to be tested, so that the observed lethal frequency in brood *b* is subject to a large sampling error ($62.9 \pm 4.7\%$). In spite of this, it is clear that mutation rate in the second brood was at least twice as high as in the first. In the third brood it had fallen to a low value, which was retained in the last brood.

Although the experiment was not designed for the detection of translocations, a few were found incidentally. They involved the second chromosome and the Y and were revealed by the absence of ♀♀ with the treated second chromosome. Stocks carrying this type of translocation are self-maintaining populations of *Cy L* ♀♀ and *Cy* — and *L* — ♂♂. (For a more detailed description see AUERBACH and MOSER 1953b.) Two of these translocations were checked cytologically by Dr. SLIZYNSKA. Altogether there were 10 of them, 8 in brood *b*, and 2 in brood *a*.

Table 2. The frequency of recessive sex-linked lethals in successive broods from irradiated ♂♂. Brood interval 3 days. Three ♀♀ per brood per ♂.

Ex- peri- ment	Dose in r	Age of ♂♂ in days	Pl ♂♂ Genotype	Pl ♀♀ Genotype	Sex-linked lethals							
					brood <i>a</i>		brood <i>b</i>		brood <i>c</i>		brood <i>d</i>	
					<i>n</i>	% l	<i>n</i>	% l	<i>n</i>	% l	<i>n</i>	% l
X 12	2000	2-3	OrK	Muller-5	480	5.2	366	12.0	152	4.6	223	2.2
X 16	1500	1	OrK	Muller-5	672	4.3	604	7.3	574	4.1	565	2.5
X 13	2000	0-1	OrK	Muller-5; <i>b cn vg</i>	397	3.3	353	11.2	150	6.7	290	1.0
			<i>b cn vg</i>	+								
X 17	1800	3	OrK	Muller-5; <i>b cn vg</i>	485	2.5	490	5.9	321	5.3	399	0.3
			<i>b cn vg</i>	+								
X 14	2000	3	OrK	<i>sSt wa sc8; Cy/L</i>	447	4.9	217	11.0	385	2.7	482	0.6

Experiments with sex-linked lethals confirmed the result obtained with autosomal ones. They are summarized in Table 2, which also gives details about X-rays dose, genotype of Pl, and age of irradiated ♂♂. A graphic representation of the results is shown in Fig. 1; it includes Expt. X 11 on autosomal lethals (Table 1).

It will be seen that in all experiments there was a strong increase of mutation frequency from the first to the second brood. The brood gradient for these two broods, i.e. the ratio of mutation frequencies in broods *b* and *a* (cf. AUERBACH and MOSER 1953), varied from 1.7 in Expt. X 16 to 3.4 in Expt. X 13. In all experiments, this peak of mutation rate was followed by a decline, but the rate of decline varied between experiments. In X 12 and X 16 (Fig. 1, top

row), mutation frequency in brood *c* was sensibly the same as in *a*; in X 13 and X 17 (Fig. 1, middle row) it was higher than in *a*, and in X 14 and X 11 (Fig. 1, bottom row) it was lower. Since experiments within each row were done on the same or very similar genotypes of ♂♂ and ♀♀, the similarity of the pattern within rows and its variation from row to row are evidence of the influence of genotype on brood pattern. Doubtlessly, much more marked shifts in the pattern could have been obtained by changes in mating procedure. In

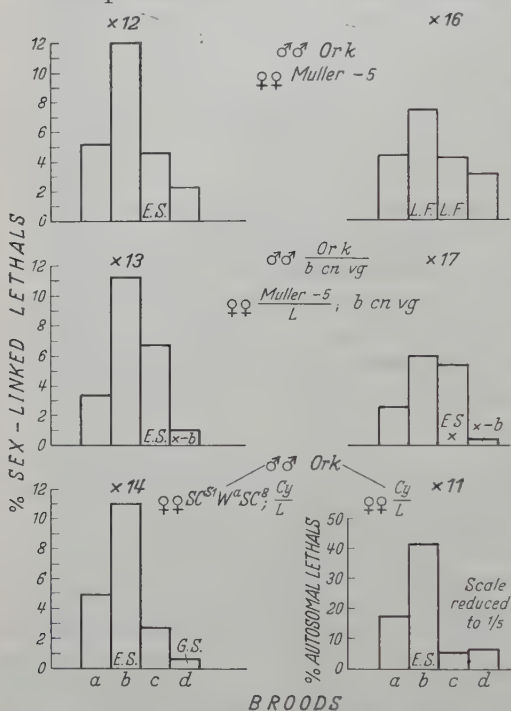


Fig. 1. The brood pattern of mutation rates after irradiation of young adult males. *L.F.*, low fertility; *E.S.*, excessive sterility; *x* first cross-overs; *x-b* bundles of identical or complementary cross-overs; *G.S.*, germinal selection.

LÜNING'S (1952d) experiment on sex-linked lethals, in which mass matings, a long mating period and a different strain were used, the increase in mutation rate occurred as late as seven days after the first mating, i.e. during the period when in the present experiments the decrease had already set in.

These minor shifts in the pattern of mutation rates reflect differences in the rate of sperm release and are therefore without value for the determination of the underlying sensitivity pattern of the adult testis. For this purpose, methods which are independent of these variations had to be used. The first consisted of a study of fertility in successive broods.

Fertility. The brood pattern of fertility in the progeny of irradiated ♂♂ has been studied very thoroughly by LÜNING (1952a). He used the percentage of unhatched eggs as a measure of dominant lethality. This, however, is correct

only for early broods, produced by irradiated mature sperm; for here, as DEMEREC and KAUFMANN (1941) have shown, practically all unhatched eggs have been fertilized and have started to develop. No similar study has been carried out for unhatched eggs from later broods of irradiated ♂♂; but it is clear that here it is no longer possible to equate non-hatchability with dominant lethality. FRIESEN'S (1937) genetical and cytological investigations have shown that the high rate at which early spermatocytes—and probably late spermatogonia—are destroyed by irradiation, is reflected in a temporary period of excessive sterility caused through lack of sperm. A corresponding period has been found in irradiated mice by HERTWIG (1938), who distinguishes clearly between sterility due to zygotic lethality and sterility due to failure of insemination. A good indication that in LÜNING'S experiments failure of insemination was at least a contributory cause of the excessive sterility between the 6th and 10th day is found in his

records of individual ♂♂ which were given one fresh ♀ daily: most of these ♀♀ laid no eggs at all during one or more days of the sterile period: since young virgin ♀♀ require the stimulus of insemination for egg-laying, it is probable that insemination had not taken place on these days.

A small experiment on OrK ♂♂ confirmed this interpretation. The ♂♂ were given 2900 r (the dose most commonly used by LÜNING) and were then mated individually to 3 fresh Muller-5 virgins every 3 days. At the end of the second and third mating periods, which correspond to broods *b* and *c* in the experiments on recessive lethals, all ♀♀—with the exception of a few which had died or were lost accidentally—were dissected for the presence of sperm in their seminal receptacles. Whereas in brood *b* 19 out of 23 ♀♀ contained ample sperm, 2 a thin suspension of spermatozoa, and 2 no sperm, in brood *c* the corresponding figures were: 4 out of 26 ♀♀ with ample sperm, 3 with a thin suspension, and 19 with no sperm. Since an insufficient supply of sperm in a fertilized ♀ presumably results in a proportion of eggs remaining unfertilized, these data show that sterility during this period is due mainly to lack of fertilization. How much, in addition, zygotic lethality contributes would have to be decided by histological examination of egg samples.

Thus, fertility of irradiated ♂♂ is reduced in two ways: by dominant lethality, which in its degree presumably parallels recessive lethality, and by insufficiency of sperm when irradiated spermatocytes have matured and are ready for use. Although the present experiments were not combined with hatchability tests, there was usually no difficulty in locating the period of excessive sterility caused by lack of sperm. With the moderate X-ray doses used, fertility, as gauged by the number of progeny, was in general satisfactory; but, with the exception of Expt. X 16, in which a period of low fertility was spread fairly evenly over broods *b* and *c*, (.,L. F. in Fig. 1), there occurred in each experiment one, and only one, period in which the number of progeny was exceedingly low, often too low to yield a sufficient number of flies for testing. In Fig. 1, this period of excessive sterility has been marked in by the letters E. S. As would be expected from the results of dissecting Muller-5 ♀♀ for sperm, the sterile period in Expt. X 12—in which Muller-5 ♀♀ had been used—occurred in brood *c*. The same was true for Expt. X 13 and X 17, in which the ♀♀ had been Muller-5/+; *b cn vg*. In these three experiments there was thus a clear separation between the period of maximum sterility in brood *c* and that of maximum mutation rate in brood *b*. It is true that in Expt. X 17 mutation rate was still high in brood *c*, but here, too, the peak had already been reached in *b*. Maximum sensitivity to the mutagenic effects of irradiation therefore occurs at a stage of spermatogenesis which is intermediate between early meiosis and the attainment of complete maturity by the sperm.

In the two experiments with *Cy/L* ♀♀, X 11 and X 14, the period of excessive sterility occurred in brood *b*, simultaneously with the peak of mutation rate. In both these experiments, brood *c* not only showed restored fertility, but also yielded very low mutation rates, suggesting that it represented treated spermatogonia. It seems that the use of the *Cy/L* ♀♀ had resulted in a speeding-up of the rate of sperm release, so that treated spermatocytes were already utilized in brood *b*.

Crossing-over. The observations on fertility had indicated that the sensitive stage to the mutagenic action of X-radiation occurs after the early stages of meiosis. In order to test this conclusion, crossing-over experiments were carried out. Obviously, crossing-over is no longer possible in late meiotic or post-meiotic stages; thus, its occurrence in a particular brood shows that at least some of the spermatozoa used for this brood had not yet passed meiosis at the time of irradiation. FRIESEN (1937) has first shown that both meiotic and spermatogonial crossing-over is induced in irradiated ♂♂. Meiotically produced cross-overs occur singly during the period of low fertility; spermatogonial cross-overs are found in subsequent broods, when fertility is again on the increase; they often occur in bundles of identical or complementary types.

In three experiments, ♂♂ from a cross of OrK and *b cn vg* were backcrossed individually to a succession of 3 *b cn vg* ♀♀ at 3 days' intervals, and recombination of the marker genes was scored in broods *b*, *c*, and *d*; no cross-overs can be expected in brood *a*. In Expt. X 10, which was a pilot test, the progeny of several ♂♂ was pooled for examination, so that bundles of identical or complementary cross-overs could not be detected. In the other two experiments, individual records were kept. These two experiments were also combined with tests for sex-linked lethals by backcrossing the irradiated ♂♂ to ♀♀ of the genotype Muller-5/+; *b cn vg*. This allows scoring of cross-overs in the F_1 and of lethals in the F_2 of the same ♂♂. Heterozygous Muller-5 ♀♀ were used in preference to homozygous ones because they are more viable and fertile, and also because scoring of *cn* in Muller-5 flies is not quite easy.

The results of all three experiments are summarized in Table 3.

Individuals showing one or two of the marker genes occurred in every brood and were all scored as recombinants (*r*). While this is undoubtedly the correct interpretation of those flies which exhibited two neighbouring marker genes (r_2), exhibition of only one marker gene (r_1) may also be due to mutation or deficiency. This is particularly so in brood *b*, in which mutation rate is at its peak value. In brood *d*, in which mutation rate is always low, even the r_1 cases are probably due to crossing-over, especially when they appear in a bundle with the complementary r_2 class. Using these criteria, one finds that clear cross-overs appeared first in brood *c*. In brood *d* they were more frequent and tended to form bunches. One possible bunch (2 *cn vg* flies) was found in brood *c*; but since these were the only 2 aberrants in an unusually large progeny of over 80, and since the second aberrant emerged several days after the first, it is more probable that this was a case of coincidence of two cross-overs in the same ♂.

In Fig. 1, the occurrence of the first, isolated cross-overs is marked in by the letter *x*, that of bunches of cross-overs by the letters *x-b*. It will be seen that in Expt. X 17 the first cross-overs occurred in the same brood which, on account of its excessive sterility, was judged to have descended from treated spermatocytes. The same is true for Expt. X 10 (not shown in Fig. 1). In all three experiments bundles of cross-overs occurred in brood *d*, showing that it came from treated spermatogonia.

The results of the cross-over tests thus confirm the previously derived interpretation of the brood pattern in terms of treated stages of spermatogenesis.

Table 3. *The frequency of recombinants in successive broods from irradiated ♂♂, heterozygous for b cn vg, and b cn vg ♀♀.*

Ex- peri- ment	Dose in r	Total offspring (n) and recombinants (r), showing one (r ₁) or two (r ₂) of the recessive markers											
		brood b				brood c				brood d			
		n	r	r ₁	r ₂	n	r	r ₁	r ₂	n	r	r ₁	r ₂
X 10	3000	1600	1 <i>cn</i>	1	0	261	1 <i>cn vg</i>	0	1	376	2 <i>b</i> 1 <i>vg</i> 1 <i>b cn</i> 7 <i>cn vg</i>	3	8
X 13	2000	2193	1 <i>b</i>	1	0	823	0	0	0	3292	4 <i>b</i> 1 <i>b</i> 8 <i>cn vg</i>	5	8
X 17	1800	2833	2 <i>b</i> 2 <i>cn</i>	4	0	953	2 <i>b</i> 2 <i>b</i> 1 <i>b cn</i> 2 <i>cn vg</i> 2 <i>cn vg</i>	5	5	2035	3 <i>b</i> 2 <i>b</i> 1 <i>vg</i> 3 <i>b</i> 2 <i>cn vg</i> 1 <i>b</i> 1 <i>cn vg</i> 3 <i>cn vg</i>	10	6
		6626		6	0	2037		5	6	5703		18	22

In X 13 and X 17, recombinants in the progeny of the same ♂ have been bracketed together.

Germinal selection. A final piece of confirmatory evidence came from a comparison of sex-linked and autosomal lethals in successive broods. The ♀♀ used in Expt. X 14 were of the genotype *sc*^{Sl}*InS w^asc*⁸; *Cy/L*. The use of this stock allows the detection of sex-linked lethals in the *F*₂ and of second-chromosome lethals in the *F*₃ of the same irradiated ♂♂. Both sets of data are compared in Table 4.

Table 4. *A comparison of sex-linked and autosomal lethals in successive broods from the same irradiated ♂♂ (Expt. X 14). Dose: 2000 r.*

Tested chromosome	Lethals in							
	brood a		brood b		brood c		brood d	
	n	%	n	%	n	%	n	%
II	167	18.0	28	25	143	6.3	222	4.0
X	447	4.9	217	11.0	385	2.7	482	0.6
Ratio II:X		3.7		2.3		2.3		6.7

The last row of the table shows the ratio of autosomal to sex-linked lethals in successive broods. In brood *b*, sterility was too high to make the figures reliable. In brood *c*, the ratio corresponds to the relative lengths of the two chromosomes; but in brood *d* it rises steeply to about three times this value, owing to a drastic decline in the frequency of sex-linked lethals. Thus it is in brood *d* that germinal selection against the uncovered lethals on the X-chromosome becomes operative. The sterility pattern of Expt. X 14 had indicated that in this experiment meiotic stages were already represented in brood *b*. The absence of

germinal selection in this brood agrees with the finding by AUERBACH and MOSER (1953) that sex-linked lethals which, by formaldehyde feeding, have been induced in late premeiotic stages are at no selective disadvantage compared with autosomal ones. Broods *c* and *d*, with restored fertility and low mutation frequency, are presumably drawn from treated spermatogonia. The fact that only brood *d* shows the effect of germinal selection fits in with PONTECORVO's (1944) contention that late, cyst-forming spermatogonia are protected by synchronous division from the harmful effects of chromosomal disturbances.

Re-arrangements. In a number of experiments, the frequencies of translocations and large deletions were scored in successive broods. Both reach their maximum simultaneously with recessive lethals. Further details of these experiments will be published in a different context.

Discussion.

At the time of irradiation, the *Drosophila* testis contains germ cells in various developmental stages. When irradiated ♂♂ are mated to a succession of virgin ♀♀ and separate broods are reared from successive mating periods, the spatial pattern of spermatogenesis in the treated testis becomes translated into a temporal pattern of genetical effects in successive broods. With the aid of effects known to be limited to certain stages, this observed brood pattern can then be re-translated into the underlying sensitivity pattern of spermatogenesis. This has been done here, using the following diagnostic criteria: excessive sterility and the first occurrence of cross-overs as characteristic of cells treated in early meiosis; bunches of identical or complementary cross-overs as characteristic of treated spermatogonia; an increase in the ratio of autosomal to sex-linked lethals as characteristic of early spermatogonia, which are subject to germinal selection.

It will be seen that in four out of six experiments (as well as in one cross-over test not shown in Fig. 1) treated spermatocytes became available for insemination in the third brood. Since the first brood obviously was derived from treated mature sperm, the second brood in these experiments must have been drawn mainly from cells treated during spermiogenesis (although cells treated in late meiotic stages may have contributed to it); the fourth brood stemmed from cells treated as spermatogonia. In agreement with this interpretation, bundles of identical or complementary cross-overs were found in the fourth brood.

In two experiments (X 11 and X 14) treated spermatocytes furnished sperm for the second brood, probably because the use of another type of ♀♀ had resulted in quicker sperm utilization. The third brood in these experiments must have sampled mainly spermatogonia, presumably of the cyst-forming stage and therefore no longer subject to germinal selection; discrimination against sex-linked lethals occurred in the fourth brood, which was derived from cells treated in young spermatogonial stages.

Having substituted stages of germ cell development for successive broods, we can now turn to the observed pattern of mutation frequencies and relate it to the treated cell types. In all experiments the peak of mutation frequency occurred in the second brood. Since in the experiments with *Cy/L* ♀♀ (X 11 and X 14) postmeiotic and meiotic stages were telescoped together into the

second brood, these experiments are not suitable for a more accurate analysis of the sensitivity pattern of the testis. Nevertheless, the accident that one of them (X 11) had been the first of the present series gave rise to the inference that meiosis is the most sensitive stage (AUERBACH 1953). The tests for sex-linked lethals make this doubtful. In these experiments, in which speed of sperm utilization was slower, excessive sterility and first cross-overs—characteristic of early meiosis—occurred in the third brood, whilst the peak of mutation frequency was already reached in the second. This shows that germ cells which enter the sensitive stage have already passed the early phases of meiosis. Sensitivity might arise in late meiotic stages, especially in metaphase and anaphase, when the condensed chromosomes are easily broken by irradiation (SPARROW 1951). However, secondary and late primary spermatocytes form such a low proportion of the cells in the adult testis that their mutation rate under irradiation would need to be exceedingly, if not impossibly, high, if they alone furnished the excess mutations found during the peak period. It seems more probable that the sensitive stage, although it may well start in late meiosis, occurs mainly during spermiogenesis. The early stages of meiosis, although not yet fully sensitive to the mutagenic action of X-rays, seem to possess a fair amount of sensitivity, as shown by the fact that mutation rates in the third brood of the Muller-5 tests were as high as or even higher than in mature sperm. Spermatogonia, on the other hand, are decidedly less sensitive than mature sperm, even in the later, synchronized stage when they are no longer subject to germinal selection.

The method of sperm sampling used in the present experiments is too rough to allow of a more accurate analysis of the changes in sensitivity which occur from early meiosis to the formation of mature sperm. Daily changes of ♀♀ would be required for this purpose, and this is now being tried. A more direct method for correlating degrees of mutational response with developmental stage of the treated germ cells is to compare mutation rates in irradiated prepupae or pupae of various ages. This is now being done by Mr. KHISHIN in this department. Mr. KHISHIN kindly permits me to quote that this preliminary data agree with the conclusions outlined above, namely a rapid increase in sensitivity in the course of meiosis, continued towards a peak during spermiogenesis.

The present results stand in contradiction to LÜNING's contention that sperm utilized by irradiated ♂♂ between the 7th and 10th day after treatment is always characterized by maximum sterility and maximum mutation rate. In the present experiments, the peak of mutation rate occurred between the 3rd and 6th day after mating, i. e. the 4th and 7th after irradiation, and in most experiments it preceded the period of excessive sterility by one brood. In order to understand the causes of these discrepancies between the two sets of experiments, LÜNING's technique must be briefly reviewed. In the majority of his hatchability tests, irradiated ♂♂ were mated individually to 1-3 ♀♀ and changed repeatedly—sometimes as often as daily—to new mates. In his experiment for sex-linked lethals, irradiated ♂♂ were mated in mass to Muller-5 ♀♀ and were left with them for 6 days; they were then given a new lot of ♀♀ for three more days and mutation rates were scored separately for the first period of 6 days and the second period of 3 days. The same technique was used in experiments for the detection of large deletions (hyperploid ♂♂) and visible mutations or

small deficiencies. In some of these latter experiments a third brood was raised from ♀♀ provided on the 11th day. It is *a priori* likely that the breeding procedure in the mutation experiments would have resulted in a slower rate of sperm utilization than in the hatchability tests. This is borne out by a look at the number of progeny in successive broods. Whereas in the hatchability tests fertility was exceedingly low between the 7th and 10th day, this same three-day period in the mutation tests furnished at least as many offspring for testing as the preceding six-day period. It seems that under the slow-breeding conditions of the mutation experiments the period of excessive sterility had not yet been reached between the 7th and 10th day; it probably occurred soon after that, as shown by the relatively small numbers of progeny from third broods produced after the 10th day. Thus, there is good reason to believe that also in LÜNING's experiments the peak of mutation rate preceded the period of excessive sterility, and that this situation was only obscured through the use of different animals and different breeding techniques for the detection of these two effects.

As regards the nature of the sensitive stage, LÜNING considers that maximum mutation frequencies and minimum hatchability rates both occur after irradiation of spermatids. For mutation frequencies, this assumption may well be correct, as shown by the analysis of the present experiments. As regards the period of lowest fertility, LÜNING's interpretation is in contrast with the findings of FRIESEN (1937) as well as of the present writer, who both showed that fertility is lowest after irradiation of early meiotic stages. The fallacy underlying LÜNING's interpretation is the assumption that the rate of sperm release is invariably the same for all flies and under all experimental conditions. Relying on this invariable regularity of sperm release, he compares his results with those obtained in 1941 by DEMEREC and KAUFMANN and concludes that sperm which in his experiments was released between the 7th and 10th day after irradiation must have been derived from older germ cells than the spermatozoa which in DEMEREC's and KAUFMANN's experiments were released on the 12th day. It is true that in some of LÜNING's hatchability tests unmated ♂♂ showed a surprising regularity of sperm release or absorption; but this is not always so (e.g. HARRIS 1929) and it certainly does not apply to mated ♂♂ (AUERBACH and MOSER 1953). The breeding procedures in the experiments by DEMEREC and KAUFMANN on the one hand, by LÜNING on the other were so entirely different that it would be surprising indeed if the rate of sperm utilization had been the same. Moreover, DEMEREC and KAUFMANN do not commit themselves as to the particular type of treated germ cells which furnished spermatozoa for their late broods. They call them immature because of the increased hatchability rate in these broods; it is much more likely that they were spermatogonia than, as LÜNING assumes, spermatocytes. These considerations remove the discrepancies between LÜNING's work and the results presented here.

It is interesting to speculate on the nature and cause of the high mutational response of the germ cells during the sensitive stage. LÜNING (1952e, f) claims that the additional mutations produced during this stage are made up entirely of intergenic changes. The argument which leads up to this conclusion is, however, largely based on two assumptions, neither of which can be considered as valid, namely (1) that the rate of sperm release is the same in all experiments,

and (2) that failure of eggs to hatch is always due to dominant lethality. Without further proof LÜNING's claim cannot, therefore, be taken for more than an interesting suggestion. Experiments to test it are now under way in this department.

The existence of a sensitive period during spermatogenesis has to be taken into account in mutation work with X-rays. Until recently, it was assumed that progeny collected during the first 10–12 days after irradiation represented a homogeneous sample for mutation work. LÜNING's data put the upper limits of safety back to 6 days. The present results show that, with good opportunity for mating, sperm treated during the sensitive stage becomes available as early as 3 days after the first mating. There is a possibility, stressed by the speedy turnover of sperm when *Cy/L* ♀♀ were used, that under conditions of unusual sexual activity even 3 days may be more than sufficient to exhaust the supply of treated mature sperm.

On the evidence presented here, the difference between the brood pattern of mutation rates after X-radiation and mustard gas has largely disappeared. The fact that after mustard gas treatment the peak of mutation frequency usually occurs in the third brood instead of in the second as after irradiation may be due to a slower sperm release by mustard gas treated ♂♂. Without an analysis of the mustard gas brood pattern along the lines used in the present work it is impossible to decide whether the sensitive stages to the mutagenic effects of X-rays and mustard gas do indeed coincide. The same applies to comparisons with other chemicals which show a peak of mutation rate during spermatogenesis (BIRD and FAHMY 1953). On the other hand, it is certain that there is no single stage of highest sensitivity to all mutagenic treatments. Mixing formaldehyde with the food of larvae produces mutations preferentially in auxocytes (AUERBACH and MOSER 1953); injection into adults of formaldehyde (AUERBACH 1952, SOBELS unpublished), urethane (VOGT 1950) or dimesyloxyalkanes (FAHMY and FAHMY 1952) acts preferentially on mature sperm. Although penetration and inter-cell selection may play a rôle in determining these patterns of response, it is unlikely that they are their sole causes. A comparative study of patterns of sensitivity to mutagens may help to elucidate the mechanisms by which these agents produce their effect.

Summary.

Young males, which had been given between 1800 and 2500 r units of irradiation, were mated individually to 3 ♀♀ every 3 days, and recessive lethals were scored separately in successive broods. The resulting "brood pattern" of mutation frequencies was transformed into a sensitivity pattern of the irradiated testis by determining which broods were derived from treated early spermatocytes (lack of functional sperm, first occurrence of crossing-over), spermatogonia (first bundles of identical or complementary cross-overs), and early spermatogonia (germinal selection). In most experiments germ cells treated as early primary spermatocytes furnished sperm for the third brood, produced between the 6th and 9th day after the first mating; in two experiments with *Cy/L* ♀♀ early spermatocytes contributed sperm already to the second brood, produced between the 3rd and 6th day, presumably because of an increased rate of sperm

utilization. In all experiments, the frequency of sex-linked lethals was approximately doubled in the second brood, and decreased again in later ones. Analysis of this pattern in terms of treated cell types leads to the following conclusions: spermatogonia are the least sensitive stage, even those which, through the formation of synchronously dividing cysts, are protected from germinal selection; during meiosis, sensitivity rapidly rises to a peak which is probably reached only in spermiogenesis. With maturation of the sperm, sensitivity declines again to about half its value during the peak period.

The similarities and differences between these results and LÜNING's findings are discussed. Attention is drawn to the need for caution in the interpretation of mutation experiments in which sperm for testing is collected for more than 2 or 3 days after the first mating.

A peak of mutagenic effects on late immature germ cells is common to X-rays, mustard gas and some other chemicals. Whether the same stage is sensitive to all these mutagens cannot be decided without further experiments. There are other mutagens, e.g. formaldehyde, which exercise their main mutagenic effect at some other stage.

Zusammenfassung.

Junge Männchen, die mit Röntgenstrahlen (1800—2500 Röntgeneinheiten) bestrahlt worden waren, wurden einzeln alle 3 Tage mit je 3 Weibchen gepaart, und rezessive Letalfaktoren wurden für jede der aufeinanderfolgenden Bruten getrennt ausgezählt. Das Resultat war ein „Brutmuster“ von Mutationsraten. Dieses wurde in ein Sensitivitätsmuster des bestrahlten Hodens umgewandelt, indem festgestellt wurde, welche Bruten von behandelten frühen Spermatozyten stammten (Mangel an funktionstüchtigem Sperma; erste cross-overs), welche von Spermatogonien (erstes Auftreten von Bündeln identischer oder komplementärer cross-over-Typen), welche von frühen Spermatogonien (Germinalselektion). In den meisten Experimenten lieferten bestrahlte Frühspermatozyten Sperma für die 3. Brut, die zwischen dem 6. und 9. Tage nach der ersten Paarung erzeugt wurde. In 2 Experimenten mit *Cy/L* ♀♀ fand sich Sperma von bestrahlten Frühspermatozyten schon in der zweiten, zwischen dem 3. und 6. Tage erzeugten Brut, vermutlich infolge eines beschleunigten Verbrauchs von Spermatozoen. In allen Experimenten war die Häufigkeit von geschlechtsgebundenen Mutationen in der 2. Brut etwa doppelt so hoch als in der ersten und fiel ab in späteren Bruten. Übertragung dieses Musters auf die im behandelten Hoden vorhandenen Stadien der Keimzellenentwicklung führt zu folgenden Schlüssen: das wenigst sensitive Stadium sind Spermatogonien, selbst die, welche durch die Bildung von synchron sich teilenden Zysten vor Germinalselektion geschützt sind; während der Meiose steigt die Sensitivität schnell zu einem Maximum, welches wahrscheinlich seinen vollen Wert erst in der Spermiogenese erreicht. In reifen Spermatozoen sinkt die Sensitivität wieder auf ungefähr den halben Maximalwert.

Die Ähnlichkeiten und Verschiedenheiten dieser Ergebnisse mit den von LÜNING erhaltenen werden besprochen. Es wird darauf hingewiesen, daß Mutationsexperimente, in denen die behandelten Männchen mehr als 2—3 Tage gepaart bleiben, zu Mißdeutungen Anlaß geben können.

Das Vorhandensein eines Maximums der mutagenen Wirkung auf späte unreife männliche Keimzellen ist den Röntgenstrahlen, dem Senfgas und einigen anderen Chemikalien gemeinsam. Ob es sich in allen diesen Fällen um das gleiche sensitive Stadium handelt, kann nicht ohne weitere Experimente entschieden werden. Es gibt jedenfalls andere Mutagene, z. B. Formaldehyd, welche ihre Hauptwirkung auf andere Stadien ausüben.

Literature cited.

AUERBACH, C.: Differences between effects of chemical and physical mutagens. Publ. Staz. Zool. Napoli **22** (Suppl.), 1 (1950). — Problems in chemical mutagenesis. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 199 (1951). — Mutation tests on *Drosophila melanogaster* with aqueous solutions of formaldehyde. Amer. Naturalist **86**, 330 (1952). — Sensitivity of *Drosophila* germ cells to mutagens. Heredity (Lond.) **6** (Suppl.), 247 (1953). — AUERBACH, C., and H. MOSER: An analysis of the mutagenic action of formaldehyde food. I. Sensitivity of *Drosophila* germ cells. Z. Vererbungslehre **85**, 479 (1953). — BIRD, MYRTLE J., and O. G. FAHMY: Cytogenetic analysis of the action of carcinogens and tumour inhibitors in *Drosophila melanogaster*. I. 1:2, 3:4-diepoxybutane. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **140**, 556 (1953). — DEMEREC, M., and H. P. KAUFFMANN: Time required for *Drosophila* males to exhaust the supply of mature sperm. Amer. Naturalist **75**, 366 (1941). — FAHMY, M. J., and O. G. FAHMY: Chemical mutagenesis in *Drosophila* and its cytogenetic analysis. Brit. Empire Cancer Campaign Annual Report. Report of the Royal Cancer Hospital, S. 16. 1952. — FRIESEN, H.: Untersuchungen über künstliche Auslösung von Crossing-over in der Meiosis und Mitosis (Russian with German summary). Biol. Z. **6**, 1055 (1937). — HARRIS, B. B.: The effects of aging of X-rayed ♂ upon mutation frequency in *Drosophila*. J. Hered. **20**, 299 (1929). — HERTWIG, P.: Unterschiede in der Entwicklungsfähigkeit von F_1 -Mäusen nach Röntgenbestrahlungen von Spermatogonien, fertigen und unfertigen Spermatozoen. Biol. Zbl. **58**, 273 (1938). — LÜNING, K. G.: X-ray induced dominant lethals in different stages of spermatogenesis in *Drosophila*. Hereditas (Lund) **38**, 91 (1952a). — X-ray induced mutations in *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **38**, 108 (1952b). — X-ray induced chromosome breaks in *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **38**, 322 (1952c). — The connection between chromosome breaks and apparent gene mutations in *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **38**, 502 (1952d). — Studies on X-ray induced mutations in various stages of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*, S. 1—12. Stockholm: Alb. Bonnier 1952e. — Studies on the origin of apparent gene mutations in *Drosophila melanogaster*. Acta Zool. (Stockh.) **33**, 193 (1952f). — MÜLLER, H. J.: The manner of production of mutations by radiation. Radiation Biology, ed. by A. HOLLAENDER, Bd. 1, Kap. 8, S. 475. 1954. — PONTECORVO, G.: Synchronous mitosis and differentiation sheltering the germ track. *Drosophila* Information Service (DIS) **18**, 54 (1944). — SPARROW, A. H.: Relative sensitivity of cells during mitotic and meiotic cycles with emphasis on possible cytochemical changes. Ann. New York Acad. Sci. **51**, 1508 (1951). — VOGT, M.: Ergänzende Befunde zur mutagenen Wirkung der Urethane (Carbaminsäureester) bei *Drosophila*. Z. Vererbungslehre **83**, 341 (1950).

Dr. CHARLOTTE AUERBACH, Institute of Animal Genetics,
West Mains Road, Edinburgh, Schottland.

Aus dem Zoologisch-vergleichend Anatomischen Institut der Universität Zürich.

VERGLEICHENDE ANALYSE DER AMINOSÄUREN UND PEPTIDE
IN DER HÄMOLYPHE DES WILDTYPS UND DER MUTANTE
„*LETAL-TRANSLUCIDA*“ (*LTR*) VON *DROSOPHILA*
*MELANOGASTER**.

Von

ELISABETH STUMM-ZOLLINGER.

(Eingegangen am 13. März 1954.)

Einleitung.

Die Mutante „*letal translucida*“ [*l(3)tr*; $20,7 \pm 0,8$] von *Drosophila melanogaster* wurde von HADORN (1949) beschrieben. Die *ltr*-Homozygoten entwickeln sich teils bis zum frühen Puppenstadium, teils führen sie noch eine partielle Metamorphose im Kopf- und Thoraxbereich durch. Die Entwicklung ist verlangsamt, so daß die Verpuppung bei 25° C mindestens 24 Std später als bei den Normaltieren erfolgt. Die augenfälligsten Phäne sind die übermäßige Anreicherung der Hämolymphe und die Wachstumshemmung des Fettkörpers. Die Entwicklungspotenz der Augen- und Genitalimaginalscheiben, der imaginalen Speicheldrüsenprimordien und der Hoden erwies sich im Transplantationsexperiment als normal. Außerdem gelang es SOBELS (1950) eine normale Entwicklungspotenz der Ovarien nachzuweisen und Nachkommen aus transplantierten *ltr*-Ovarien zu erhalten. Die morphologischen Minderleistungen der Mutante schienen somit nicht geeignet, über die genphysiologische Grundlage des Schädigungsmusters Auskunft zu geben.

GLOOR (1949) suchte deshalb die Analyse der Genwirkung mit chemischen Untersuchungsmethoden weiterzuführen. Er stellte fest, daß der Salzgehalt der Hämolymphe erhöht ist, während die Konzentration der Proteine, deren Mengenverhältnis verändert zu sein scheint, herabgesetzt ist. WUNDERLY und GLOOR (1953) fanden mit Hilfe der Papierelektrophorese eine geringe Verschiebung im Mengenverhältnis der beiden durch verschiedene Wanderungsgeschwindigkeit charakterisierten Proteinfractionen.

HADORN und MITCHELL (1951) zeigten mittels der Papierchromatographie, daß die ninhydrinpositiven Stoffe, die vor allem in der Hämolymphe auftreten, in den letalen Larven stark vermehrt sind. Dieser Befund wurde in der Folge mit einer quantitativen Methode präzisiert (HADORN und STUMM 1953). Danach bleibt der Konzentrationsabfall der Aminosäuren und Peptide, der bei den normalen Larven während den letzten 12 Std des Larvenlebens erfolgt, in der Hämolymphe der Mutante aus. Gleichzeitig wird die Blutflüssigkeit stark vermehrt, so daß die verpuppungsreifen Letalen die dreifache Menge ninhydrin-

* Ausgeführt mit Unterstützung der Karl Hescheler-Stiftung. Dem Kuratorium danke ich bestens für die gewährte Hilfe.

Herrn Prof. Dr. E. HADORN bin ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für zahlreiche wertvolle Ratschläge zu herzlichem Dank verpflichtet. Herrn Dr. C. WUNDERLY danke ich bestens für seine Einführung in die Technik der zweidimensionalen Chromatographie.

positiver Stoffe enthalten, verglichen mit den normalen Geschwistern des gleichen physiologischen Alters. Alle diese Befunde deuten darauf hin, daß der Letalfaktor „*letal translucida*“ direkt oder indirekt störend in den Protein-stoffwechsel eingreift.

Es schien uns nun die nächste Aufgabe zu sein, mit Hilfe der zweidimensionalen Chromatographie die Aminosäuren und Peptide der *ltr*-Hämolymphe und der normalen Hämolymphe qualitativ und quantitativ zu vergleichen, um weitere Einblicke in die Stoffwechselstörung zu gewinnen.

Technik.

Der Letalfaktor (*ltr*) wird in einer balancierten Kombination über einem Inversionschromosom geführt, das die dominanten Markierer *Mé* = *Moiré* und *Sb* = *Stubble* enthält. Auch in dieser Arbeit werden die Heterozygoten (*ltr/Mé Sb*) als normale Kontrollen mit den homozygoten letalen (*ltr ltr*) Geschwistern verglichen (HADORN und STUMM 1953). Es wurde auf Standardfutter (Mais-Agar-Hefe-Zucker) bei $25 \pm 1^\circ \text{C}$ gezüchtet. Wir bestimmten die Aminosäuren und Peptide von ausschließlich verpuppungsreifen Tieren (Alter der Letalen: 120 ± 2 Std nach Eiablage; Alter der Kontrollen: 96 ± 2 Std nach Eiablage). Vor der Entnahme der Hämolymphe wurden die Larven in destilliertem Wasser gewaschen und auf Filterpapier getrocknet. Darauf wurde das Integument geöffnet, mit einer Pipette Hämolymphe abgesogen und diese in ein Mikrozentrifugengläschen gebracht. Das Eiweiß wurde im siedenden Wasserbad koaguliert und abzentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit brachten wir mit einer geeichten Mikropipette auf das Chromatographiepapier.

Für die Analyse der Aminosäuren wurde auf Whatman I-Filterpapier ($28 \times 46 \text{ cm}$) bei Zimmertemperatur chromatographiert. Als Lösungsmittel verwendeten wir 70%ige wäßrige n-Propanollösung (in der ersten Richtung, aufsteigend) und wassergesättigtes Phenol (in der zweiten Richtung, absteigend). Das Phenolpräparat von Merck Darmstadt muß nicht vorgereinigt werden, und bei Verwendung von einwandfrei bidestilliertem Wasser zur Sättigung des Phenols entsteht keine störende braune Front auf dem Filterpapier. Nach der Entwicklung mit Propanol wurde das Chromatogramm luftgetrocknet, während das Phenol in einem Kasten mit durchströmender Warmluft aus dem Papier entfernt wurde. Zur qualitativen Analyse der ninhydrinpositiven Stoffe in der Hämolymphe besprühten wir das Papier mit einer 0,1%igen äthanolischen Ninhydrinlösung (Ninhydrin von F. Hoffmann-La Roche¹) und erhitzten es im Trockenschrank während 10 min auf $60 \pm 2^\circ \text{C}$. Zur Identifizierung der dabei entstehenden Flecken wurden parallel Vergleichschromatogramme mit den verschiedenen reinen Aminosäurepräparaten hergestellt. Für einige Aminosäuren war es zur eindeutigen Identifikation notwendig, zusätzlich folgende Lösungsmittel zu verwenden:

44 ml H_2O + 125 ml 2,4,6-Collidin; 40 ml n-Butanol + 10 ml Eisessig + 50 ml H_2O ; 50 ml n-Propanol + 25 ml NH_3 1%ig.

Für quantitative Bestimmungen wurden die Aminosäuren und Peptide zunächst durch leichtes Anfärben auf dem Chromatogramm lokalisiert. Es ist dabei vorteilhaft nur soviel Ninhydrin auf das Papier zu bringen, daß die ninhydrin-positiven Stoffe gerade noch eine schwache Farbreaktion geben; der dadurch hervorgerufene Verlust ist so klein, daß er vernachlässigt werden kann. Es eignet sich dazu eine 0,01%ige äthanolische Ninhydrinlösung. Die schwach sichtbaren Flecken werden mit Bleistift bezeichnet und das Papier wird, um adsorbierte NH_4^+ -Ionen zu entfernen, mit 1%iger methanolischer Kalilauge besprüht und anschließend bei $60 \pm 1^\circ \text{C}$ während 15 min getrocknet. Die bezeichneten Stellen werden ausgeschnitten, einzeln in Reagensgläser gebracht, mit 5 cm³ des Ninhydrinreagens nach BOISSONNAS (1 g Ninhydrin + 100 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ gelöst in 100 cm³ Methylcellosolve + 50 cm³ n-NaOH + 50 cm³ 2n- CH_3COOH) übergossen und während genau 20 min im siedenden Wasserbad erwärmt (BOISSONNAS 1950). Danach wird die Reaktion durch Einstellen der Reagensgläser in kaltes Wasser momentan unterbrochen. Vor der Photometrierung verdünnen wir den Extrakt mit 5 cm³ einer wäßrigen 50%igen n-Propanollösung. Nach

¹ Der Firma F. Hoffmann-La Roche, Basel, sind wir für die Überlassung eines Teils des Ninhydrins zu Dank verpflichtet.

mindestens 10 min und innerhalb 2 Std wurden die Extinktionen in einem Beckman-Spektrophotometer Modell DU bei einer Wellenlänge von 570 m μ (Prolin bei 440 m μ) gemessen.

Es gelang uns nicht, den Blindwert des Papiers ganz zu eliminieren. Wir bestimmten ihn deshalb für jedes Chromatogramm an 2 Papierflächen von je 10 cm². Die beiden parallelen Bestimmungen zeigten in ihren Extinktionswerten selten eine größere Differenz als 0,02. Der Blindwert des Papiers ist proportional zur Fläche. Er mußte für jeden Aminosäurefleck, dessen Flächeninhalt wir nach Durchpausen auf ein durchsichtiges Papier planimetriert hatten, berechnet und zusammen mit dem Blindwert des Reagens von den gemessenen Extinktionswerten in Abzug gebracht werden. BOISSONNAS (1950) hat für einen großen Teil der Aminosäuren die 10⁻⁷-molaren Extinktionskoeffizienten bestimmt. Seine Werte konnten von uns übernommen werden, nachdem wir sie an einzelnen Aminosäuren überprüft hatten.

Verschiedene Autoren (FOWDEN and PENNEY 1950; NOVELLIE 1950; BRUSH, BOUTWELL, BARTON und HEIDELBERGER 1951, usw.) haben darauf hingewiesen, daß bei Verwendung von Phenol als Lösungsmittel die Aminosäuren beim Erhitzen zum Teil hydrolysieren. Wir haben deshalb mit Standardlösungen der reinen Aminosäuren, mit denen der analoge Analysengang durchgeführt wurde, Eichkurven aufgenommen. Für jede Aminosäure führten wir 4—5 Doppelbestimmungen innerhalb eines Mengenbereiches von 2—50 γ aus. Unsere Eichkurven zeigen eine exakt lineare Abhängigkeit des Extinktionswertes von der Aminosäuremenge. Mit Hilfe der in Tabelle 1 aufgeführten Gleichungen kann die Aminosäuremenge aus den Extinktionswerten berechnet werden.

Tabelle 1. Gleichungen zur Bestimmung der Aminosäuremengen aus den Extinktionswerten.

a = Menge der entsprechenden Aminosäure in γ (10⁻⁶ g). ε = Extinktionswerte bei 570 m μ (Prolin bei 440 m μ).

Glutaminsäure	$a = 78,9 (\varepsilon + 0,005)$	Lysin	$a = 112 (\varepsilon + 0,097)$
Asparaginsäure	$a = 79,8 (\varepsilon + 0,000)$	Leucin	$a = 80,7 (\varepsilon + 0,064)$
Threonin	$a = 69,6 (\varepsilon + 0,050)$	Alanin	$a = 48,9 (\varepsilon + 0,039)$
Glutamin	$a = 91,6 (\varepsilon + 0,007)$	Valin	$a = 64,4 (\varepsilon + 0,065)$
Tyrosin	$a = 210,5 (\varepsilon + 0,018)$	Glycin	$a = 38,5 (\varepsilon + 0,032)$
Prolin	$a = 819 (\varepsilon + 0,000)$	Serin	$a = 72,0 (\varepsilon + 0,012)$
Cystin	$a = 413 (\varepsilon + 0,000)$		

Die Resultate zeigten uns, daß bei der Verwendung von Phenol ein Teil der Aminosäuren zerstört wird, ohne jedoch die Genauigkeit der Bestimmungen herabzusetzen. Allerdings gelang es uns nicht, die Bestimmung mit der von BOISSONNAS angegebenen Genauigkeit durchzuführen. Die Extinktionswerte unserer Doppelbestimmungen differieren im Durchschnitt (arithmetisches Mittel aus 35 Doppelbestimmungen) um $\varepsilon = 0,029$ (0,005—0,075).

Da die verschiedenen Aminosäuren in sehr unterschiedlichen Mengen in der Hämolymphe vorhanden sind, konnten wir nicht für alle gleichzeitig einen günstigen Konzentrationsbereich und eine scharfe Trennung erzielen. Aus Tabelle 2 ist die Menge Hämolymphe (mm³) ersichtlich, an der die quantitativen Bestimmungen durchgeführt wurden.

Tabelle 2. Menge der Hämolymphe, die zur Bestimmung der verschiedenen Aminosäuren und Peptide chromatographiert wurde.

mm ³ Hämolymphe	Daraus bestimmte Aminosäuren und Peptide
5,28	Peptid 1, Peptid 2
20,84	Serin + Glycin, Lysin + Ornithin, Threonin, Glutamin, Alanin, Tyrosin
36,4	Glutamin, Alanin, Tyrosin, Leucin, Valin, Prolin

Zur Hydrolyse verdünnten wir die Hämolymphe in einem Glühröhrchen mit dem gleichen Volumen 12-molarer Salzsäure. Das Röhrchen wurde zugeschmolzen und während 12 Std auf 110° C erhitzt. Danach dampften wir das Hydrolysat in einer Mikrodestillationsapparatur am Vakuum der Wasserstrahlpumpe zur Trockene ein und nahmen den Trockenrückstand mit aqua bidest. auf. (Das Volumen des bidestillierten Wassers entsprach dem Volumen der unverdünnten Hämolymphe.) Da diese Lösung noch Spuren von HCl enthielt, die sich auf das Chromatogramm nachteilig auswirken, fügten wir einige Körnchen eines basischen

Anionenaustauschers (Amberlite JR 4B, mit OH-Ionen aufgeladen) zu, wodurch eine Neutralisierung bis zum p_H 3—4 erfolgte. Für das quantitative Arbeiten ist die Zugabe von Austauscherharz weniger geeignet, da es Dicarbonsäuren adsorbiert.

Experimentelle Ergebnisse.

AUCLAIR und DUBREUIL (1953) haben bei verschiedenen Insekten, so auch bei *Drosophila melanogaster* die in der Hämolymphe frei vorkommenden Aminosäuren und Peptide mit Hilfe der Papierchromatographie studiert und deren relative Mengen bestimmt. Sie geben die Aminosäuren und Peptidmengen durch die Anzahl mm^3 der Hämolymphe an, die chromatographiert werden muß, damit der entsprechende Fleck auf dem Papier gerade noch sichtbar wird. In Tabelle 3 sind die Aminosäuren und Peptide zusammengestellt, die wir in der Hämolymphe der letalen *ltr/ltr*-Larven und der als Kontrollen verwendeten *ltr/+*-Larven fanden.

Tabelle 3. Vergleich der freien Aminosäuren und Peptide in der Hämolymphe von letalen *ltr/ltr*-Larven und normalen *ltr/+*-Kontrollen.

Aminosäuren und Peptide	Letale Larven	Normale Larven	Aminosäuren und Peptide	Letale Larven	Normale Larven
α -Alanin	+	+	Ornithin	+	fehlt
β -Alanin	+	+	Oxyprolin	fehlt	fehlt
Arginin	+	+	Prolin	+	+
Asparaginsäure	fehlt meistens	+	Serin	+	+
Cystin	+	fehlt	Threonin	+	+
Glutamin	+	+	Tyrosin	+	+
Glutaminsäure	fehlt oft	+	Valin	+	+
Glycin	+	+	Peptid 1	+	+
Histidin	+	+	Peptid 2	+	+
Leucin-Isoleucin . . .	+	+	Peptid 3	+	+
Lysin	+	+	Peptid 4	fehlt	+

Als Peptide bezeichnen wir diejenigen Stoffe, die durch Salzsäure hydrolysiert werden (ausgenommen Glutamin, Asparagin und Cystin). Zur Charakterisierung der 4 Peptide haben wir deren R_f -Werte bestimmt. Da wir weder mit identischen Mengen, noch bei konstanter Temperatur arbeiteten, geben wir zu Vergleichszwecken gleichzeitig unseren R_f -Wert des Glutamins an.

Tabelle 4. R_f -Werte der in Tabelle 3 aufgeführten Peptide und des Glutamins in 70%igem wäßrigem *n*-Propanol und in wassergesättigtem Phenol.

n = Zahl der Bestimmungen; s = mittlere quadratische Abweichung.

Peptide	n	R_f -Wert in Propanol-Wasser	s	n	R_f -Wert in wassergesättigtem Phenol	s
Peptid 1 . .	20	0,047	$\pm 0,0228$	20	0,078	$\pm 0,0267$
Peptid 2 . .	16	0,065	$\pm 0,0287$	16	0,129	$\pm 0,0282$
Peptid 3 . .	15	0,174	$\pm 0,0292$	15	0,377	$\pm 0,0301$
Peptid 4 . .	8	0,096	$\pm 0,0405$	8	0,222	$\pm 0,0241$
Glutamin . .	9	0,236	$\pm 0,0379$	9	0,572	$\pm 0,0205$

AUCLAIR und DUBREUIL (1953) fanden in dem von ihnen untersuchten Stamm im Gegensatz zu uns Asparagin, Methionin und Oxyprolin, während bei ihnen β -Alanin und Histidin fehlen. β -Alanin und Histidin traten bei uns in der Hämolymphe sowohl der letalen als auch der normalen Larven regelmäßig auf. β -Alanin ist durch seine Lage auf dem Chromatogramm und zusätzlich durch die

blaue Farbe, die es mit Ninhydrin entwickelt, gekennzeichnet. Asparagin zeigt in Propanol-Wasser und in wassergesättigtem Phenol die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit wie das Peptid 3, doch bildet es mit Ninhydrin eine bräunlich-rote Farbe, während sich das Peptid 3 gelb färbt. Das Peptid 3 kann nicht mit Dopa, das ebenfalls mit Ninhydrin eine gelbe Farbe entwickelt, verwechselt werden, da Dopa in den von uns angewandten Lösungsmitteln schneller wandert.

Die Reaktion von Prolin und Oxyprolin mit Ninhydrin ist nicht sehr empfindlich. Es wurde deshalb zusätzlich versucht, Oxyprolin mit Isatin nachzuweisen. Dazu wurde das Chromatogramm (30 mm³ Hämolymphe) mit 0,3%igem Isatin in 96%igem n-Butanol in Eisessig (1:1) besprüht, getrocknet und 24 Std im Dunkeln gehalten. Prolin und Oxyprolin bilden blaugüne Flecken, während die übrigen Aminosäuren unsichtbar bleiben. Die Reaktion war negativ für Oxyprolin sowohl bei den letalen *ltr/ltr*-Tieren und den normalen *ltr/+*-Kontrollen, als auch bei einem Berlin-Wildstamm.

Methionin und Valin lassen sich mit dem Lösungsmittelpaar Propanol-Wasser und wassergesättigtes Phenol nicht trennen. Wir eluierten deshalb den mit Ninhydrin leicht angefärbten Fleck, der seiner Lage auf dem Chromatogramm nach Valin oder Methionin entsprach, mit Wasser, engten das Eluat im Vakuum ein und chromatographierten es eindimensional in einem Gemisch von 44 cm³ Wasser und 125 cm³ 2,4,6-Collidin. Dieses Lösungsmittel hatte sich an reiner Valin- und Methioninsubstanz als zur Trennung geeignet erwiesen. Es zeigte sich dabei, daß Methionin in der letalen Mutante und in den Kontrollen fehlt.

Cystin wurde nur in der Hämolymphe der letalen Larven gefunden. Es unterscheidet sich von Peptid 4 durch seine größere Wanderungsgeschwindigkeit im wassergesättigten Phenol. Durch die Behandlung mit 6n HCl wurde es zerstört, während es bei der Hydrolyse mit gleichen Teilen 6n HCl und 90%iger HCOOH erhalten blieb. Allerdings ist der Cystinfleck nach der Ameisensäure-Salzsäurebehandlung schwächer als vor der Hydrolyse, so daß es sich möglicherweise um ein Peptid handelt, das Cystin enthält und das in Propanol-Wasser und im wassergesättigten Phenol die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit zeigt wie Cystin. Es wurde nicht isoliert hydrolysiert.

Glutamin wurde isoliert, hydrolysiert und dabei in Glutaminsäure übergeführt. Seine Wanderungsgeschwindigkeit wurde mit derjenigen des reinen Glutaminpräparates verglichen in Propanol-Wasser, Propanol-Ammoniak-Wasser, Collidin, im wassergesättigten Phenol und in Butanol-Eisessig.

Die von uns angewandten Lösungsmittel erwiesen sich als wenig geeignet für die basischen Aminosäuren Lysin, Arginin und Ornithin. Diese werden unscharf getrennt und zeigen starke Schwanzbildung. Zudem bildet Lysin oft mehr als einen Fleck. Ornithin bildet einen hufeisenförmigen Fleck und wandert im wassergesättigten Phenol wenig langsamer als Lysin.

Die Peptide 1 und 2, die identisch sind mit dem von HADORN und MITCHELL (1951) beschriebenen Larvin, wurden von uns gemeinsam hydrolysiert; sie enthalten sicher Asparaginsäure, Glutaminsäure, Serin, Glycin und Tyrosin. Bei der Mutante *translucida* kann gelegentlich eines der beiden Peptide fehlen.

Peptid 7 ist nur selten auf dem Chromatogramm sichtbar, da es in sehr geringer Menge in der Hämolymphe vorhanden ist. CHEN und HADORN (1954), welche die Aminosäuren und Peptide in der Hämolymphe jüngerer Larven von *Drosophila melanogaster* bestimmten, fanden hier reichlich γ -Aminobuttersäure;

gelegentlich konnten sie diesen Stoff auch in verpuppungsreifen Larven nachweisen.

In unseren Untersuchungen erfaßten wir nur Aminosäuren und Peptide, die beim Chromatographieren von 40 mm³ Hämolymphe auf dem Papier sichtbar werden. Die Ergebnisse zeigten uns, daß der hohe Gehalt an ninhydrinpositiven Substanzen in der Hämolymphe der letalen Larven nur in geringem Maße durch das Auftreten zusätzlicher Aminosäuren bedingt ist. Es galt deshalb weiter festzustellen, ob die vorhandenen Aminosäuren gleichmäßig vermehrt, oder ob einzelne vorwiegend in der Hämolymphe angereichert sind.

In Tabelle 5 sind die Resultate unserer quantitativen Bestimmungen und deren mittlere quadratische Abweichung wiedergegeben. β -Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Histidin und die Peptide 3 und 4 wurden weggelassen, da sie in zu geringen Mengen in der Hämolymphe vorhanden sind, um genau bestimmt zu werden. Da die Messungen an verschiedenen Volumen Hämolymphe ausgeführt wurden, rechneten wir mit Hilfe der in Tabelle 1 angegebenen Gleichungen alle Resultate auf $\gamma/10$ mm³ um. Glycin-Serin, Ornithin-Lysin und die Peptide 1 + 2 wurden je gemeinsam bestimmt, da sie sich nicht genügend trennen ließen. Die Extinktionswerte von Glycin-Serin wurden in γ Glycin, diejenigen von Ornithin-Lysin in γ Lysin umgerechnet. Da die Zusammensetzung der Peptide 1 und 2 nicht bekannt ist, können für diese nur die Extinktionswerte angegeben werden.

Tabelle 5. Menge (γ) der Aminosäuren und Peptide in 10 mm³ Hämolymphe der letalen *ltr/ltr*-Larven und der normalen *ltr/+*-Larven.

n = Zahl der Bestimmungen; s = mittlere quadratische Abweichung.

Aminosäuren und Peptide	n	<i>ltr/ltr</i> -Larven		n	<i>ltr/+</i> -Larven	
		$\gamma/10$ mm ³	s		$\gamma/10$ mm ³	s
α -Alanin	12	4,2	$\pm 1,27$	8	7,0	$\pm 1,23$
Cystin	5	24,8	3,52	—	—	—
Glutamin	13	42,4	3,66	8	21,8	4,52
Glycin + Serin	6	7,4	0,84	4	3,2	0,69
Leucin/Isoleucin . . .	7	2,7	0,70	5	3,1	0,66
Lysin + Ornithin . . .	5	41,0	5,64	4	8,9	1,76
Prolin	7	21,0	7,11	5	34,1	0,53
Threonin	12	4,3	0,46	8	3,1	0,81
Tyrosin	12	6,1	2,23	9	12,6	4,16
Valin	7	2,9	0,42	5	2,7	0,13
Peptid 1 + 2	5	$\varepsilon = 0,343$	0,006	6	$\varepsilon = 0,920$	0,065

Die quantitativen Unterschiede prüften wir statistisch nach dem *t*-Verfahren. Danach enthält die Hämolymphe der letalen Larven statistisch gesichert mehr Serin-Glycin, Ornithin-Lysin, Threonin und Glutamin als die normale Hämolymphe, während Prolin, Tyrosin, α -Alanin und die Peptide in geringerer Konzentration vorhanden sind. Für Valin und Leucin-Isoleucin wurden keine Unterschiede gefunden.

Diskussion.

Unsere Untersuchung hat gezeigt, daß in der Hämolymphe der Mutante „*letal-translucida*“ die Konzentration einzelner Aminosäuren abnorm erhöht, anderer Aminosäuren und der Peptide herabgesetzt ist. Obschon es nicht möglich ist, aus den Resultaten direkte Schlüsse auf die genphysiologische Wirkung des Letalfaktors zu ziehen, helfen die gewonnenen Kenntnisse, zusammen mit den

Ergebnissen anderer Arbeiten über die Mutante, doch den Weg der weiteren Analyse anzudeuten. Charakteristisch ist einerseits die starke Vermehrung des Glutamins und der beiden Diaminosäuren Lysin-Ornithin, deren Konzentration allerdings auch in der Hämolymphe normaler Larven groß ist; andererseits ergeben sich aus der Verminderung der beiden Peptide und der Herabsetzung des Eiweißgehaltes einige Anhaltspunkte über die Stufe des Eiweißstoffwechsels, in die der Letalfaktor primär oder sekundär möglicherweise eingreifen könnte.

Ein Hungereffekt durch Störung der Proteasenfunktion im Darm, wobei nach dem Gesetz des Minimums nicht genügend Eiweiße synthetisiert werden können, obschon die Aminosäuren teilweise im Überschuß vorhanden sind, ist wenig wahrscheinlich. Wie eigene Kontrollen ergaben, werden alle Aminosäuren (ausgenommen β -Alanin), die in der Hämolymphe von *Drosophila melanogaster* auftreten, den letalen Larven in der Bäckerhefe, die wir zur Zucht verwendeten, in freier Form angeboten. Zudem ist allgemein bekannt, daß die Überführung einer Aminosäure in eine andere eine im Organismus weit verbreitete Erscheinung ist. Von der Verfütterung von Extrakten normaler Larven hat man deshalb kaum eine Verbesserung der Leistung der Mutante zu erwarten. Neue freie Aminosäuren werden damit der Larve nicht zur Verfügung gestellt, und Peptidverbindungen, in deren Synthese das *ltr*-Gen möglicherweise störend eingreifen könnte, sind für die Larve nicht verwertbar, da sie im Darm vor der Resorption fermentativ hydrolysiert werden.

Es ist aber denkbar, daß die Resorption der Aminosäuren erschwert ist. Der Organismus weist einen Eiweißmangel auf, den er zu beheben suchen könnte, indem er aus den Proteinabbauprodukten, vor deren Ausscheidung, durch Bildung von Glutamin und Hexonbasen den Stickstoff abfängt und sich selber wieder zuführt. Andererseits kann angenommen werden, daß die Anreicherung von Ornithin-Lysin und namentlich von Glutamin, das im normalen Genotypus als Übergang zu Peptidverbindungen angenommen wird, davon herrührt, daß in der Mutante diese Produkte nur in vermindertem Maße weiterverwendet werden können. Die Wasserakkumulation würde dabei den osmotischen Druck regulieren (HADORN und STUMM 1953). CHEN (1951) untersuchte den O_2 -Verbrauch der *ltr*-Larven. Er fand, daß die O_2 -Aufnahme bei der Mutante schon 48 Std nach Eiablage geringer ist, als bei den normalen Geschwistern des gleichen physiologischen Alters. Dies könnte die Folge des herabgesetzten Eiweiß- bzw. Aminosäureabbaues sein. Als weitere Möglichkeit der *ltr*-Genwirkung kann eine Störung des Eiweißabbaues im allgemeinen, der Harnsäuresynthese im speziellen in Betracht gezogen werden. Durch die vermehrte Tätigkeit einer Deaminase würde Ammoniak freigesetzt. Da diese Verbindung für den Organismus giftig ist, würde sie teils durch vermehrte Wasseraufnahme verdünnt, teils durch Bildung von Glutamin und basischen Aminosäuren entgiftet.

Nun gibt es aber eine Reihe von Beobachtungen, die nur schwer mit einem derartigen Mechanismus der Genwirkung in direkten ursächlichen Zusammenhang gebracht werden können. So tritt die abnorme O_2 -Aufnahme bei den letalen Larven viel früher in Erscheinung, als die Akkumulation der Aminosäuren (CHEN 1951). GLOOR (1949) stellte sodann fest, daß die *ltr*-Larven empfindlicher auf einen erhöhten Salzgehalt des Futters reagieren, als die normalen Geschwister. Außerdem ist die Cl^- -Konzentration der Hämolymphe der Mutante herabgesetzt (CHEN, mündliche Mitteilung). In diesen Zusammenhang muß die Hypothese

von HADORN und STUMM (1953) gestellt werden, wonach durch abnorme Funktion der MALFIGHISCHEN Gefäße oder des Analorgans primär die Osmoregulation gestört ist. HADORN und STUMM nehmen dabei an, daß Ornithin-Lysin und Glutamin als osmotisch wirksame Substanzen freigesetzt werden. Zur Interpretation unserer Resultate sind weitere Untersuchungen biochemischer und physiologischer Art notwendig.

Zusammenfassung.

1. Die freien Aminosäuren und Peptide in der Larvenhämolymph des Wildtyps und der Mutante „*letal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster* wurden qualitativ und quantitativ bestimmt und miteinander verglichen.

2. In der *ltr*-Hämolymph sind Serin-Glycin, Lysin-Ornithin, Threonin und Glutamin angereichert, während die Konzentration von Prolin, Tyrosin, α -Alanin und der Peptide 1 und 2 herabgesetzt ist.

3. Bei der Mutante treten im Unterschied zum Wildtyp Ornithin und Cystin auf, während ein Peptid fehlt.

4. Verschiedene Ansätze zu einer Deutung der Wirkung des *ltr*-Gens werden diskutiert.

Literatur.

AUCLAIR, J. L., et R. DUBREUIL: Etude sur les acides aminés libres de l'Hémo-lymphe des Insectes par la méthode de Chromatographie sur papier filtre. *Canad. J. Zool.* **31**, 30 (1953). — BOISSONNAS, R. A.: Dosage colorimétrique des acides aminés séparés par chromatographie sur papier. *Helvet. chim. Acta* **33**, 1975 (1950). — BRUSH, M. K., R. K. BOUTWELL, A. D. BARTON and C. HEIDELBERGER: Destruction of Amino Acids during Filter Paper Chromatography. *Science (Lancaster, Pa.)* **113**, 2923 (1951). — CHEN, P. S.: A comparative study of the oxygen consumption in the three lethal mutants „*ltr*“, „*lgl*“ and „*lme*“ of *Drosophila melanogaster*. *Z. Vererbungslehre* **84**, 38 (1951). — CHEN, P. S., u. E. HADORN: Vergleichende Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der larvalen Hämolymph von *Drosophila*, *Ephestia* und *Corethra*. *Rev. suisse Zool.* **1954** (im Druck). — FOWDEN, L., and J. R. PENNEY: Elimination of Losses in the Quantitative Estimation of Amino-acid by Paper Chromatography. *Nature (Lond.)* **165**, 846 (1950). — GLOOR, H.: Biochemische Untersuchungen am Letalfaktor „*letal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. *Rev. suisse Zool.* **56**, 281 (1949). — HADORN, E.: Zur Entwicklungsphysiologie der Mutante „*letal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. *Rev. suisse Zool.* **56**, 271 (1949). — HADORN, E., and H. K. MITCHELL: Properties of mutants of *Drosophila melanogaster* and changes during development as revealed by paper chromatography. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **37**, 650 (1951). — HADORN, E., u. E. STUMM-ZOLLINGER: Untersuchungen zur biochemischen Auswirkung der Mutation „*letal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. *Rev. suisse Zool.* **60**, 506 (1953). — NOVELLIE, L.: Quantitative Paper Chromatography of Amino-acids. *Nature (Lond.)* **166**, 1000 (1950). — SOBELS, F.: Experimentell erzeugte Nachkommenschaft von letalen Ovarien der Mutante „*letal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. *Experientia (Basel)* **6**, 139 (1950). — WUNDERLY, CH., u. H. GLOOR: Versuche zur Charakterisierung der larvalen Blutproteine normaler und letaler Genotypen von *Drosophila* mittels Papierelektrophorese. *Protoplasma (Wien)* **48**, 20 (1953).

Frau Dr. ELISABETH STUMM-ZOLLINGER,

Zoologisch-vergleichend Anatomisches Institut der Universität Zürich (Schweiz).

Institute of Zoology and Comparative Anatomy, University of Zürich.

A STUDY OF THE OXYGEN CONSUMPTION OF NORMAL AND LETHAL
EMBRYOS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER**.

By

ALICE LOUISE BULL.

With 1 figure in the text.

(Eingegangen am 13. März 1954.)

That pleiotropic effects result from the action of lethal mutations or deficiencies appears to be the general rule (GLUECKSOHN-WAELSCH 1951, HADORN 1951, reviews). If the mutant action is an early one, it is more likely that a greater pattern of damage will result. In order to analyze the important causal factors, it is desirable to investigate these sequences of abnormal development as close to the source as possible. This necessitates the description of a lethal genotype, including physiological and biochemical "phenes" as well as morphological ones.

Such a study was made of the respiration of three lethal genotypes of *Drosophila melanogaster*, *lethal translucida* (*ltr*), *lethal giant larvae* (*lgl*) and *lethal meander* (*lme*) by CHEN (1951). He found that in larval development there is a general retardation of growth and a correspondingly lowered oxygen consumption. After puparium formation the respiration of the lethals falls off very rapidly and then remains at a low level for a long period. Further studies on the *ltr* mutant (HADORN and STUMM-ZOLLINGER 1953), in which the quantities of amino acids and peptides in the hemolymph of the normal and lethal larvae were compared, have demonstrated a disturbance of protein metabolism in the lethals.

But for most of the cases of embryonic lethality in *Drosophila melanogaster*, there exists only the description of the pattern of damage from a morphological or histological point of view, or merely the citation of the time of apparent developmental standstill. However, a few investigations of physiological aspects have been made. BOELL and POULSON (1939), using the Cartesian diver microrespirometer, compared the respiration of *Null-X* with normal eggs. They found a respiratory breakdown in the *Null-X* eggs which coincided with developmental failure. They also studied the cholinesterase activity of embryonic lethals resulting from the *Notch* deficiencies (1946), which POULSON (1940) had demonstrated were characterized by hypertrophy of the nervous system. The results showed that the enzyme activity in the lethals was increased proportionately to the volume increase in the *Notch* nervous system, and suggest that this enlarged nervous system in the *Notch* hemizygotes is biochemically normal with respect to cholinesterase. KALISS (1939) also described an X chromosomal lethal which shows signs

* I should like to express my sincere appreciation to Prof. E. HADORN for the generous hospitality of his laboratory during the course of this work and for his advice on many aspects of the problem. I am also very grateful to Dr. P. S. CHEN who taught me the method used for measuring oxygen consumption and who gave continuous help throughout the experimental work and in the analysis of the results and the writing of the manuscript. — My sincere thanks are also due the American Association of University Women, who made possible this year at the University of Zürich, through the award of the Florence R. Sabin fellowship.

of physiological abnormalities, since the muscular movements are impaired, the tracheae are without air and osmotic regulation is disturbed.

The present report compares the oxygen consumption throughout the development of an embryonic lethal of *Drosophila melanogaster*, $Df(2)vg^B/Df(2)vg^B$, with that of control eggs undergoing normal embryogenesis. It has been demonstrated for the lethals that the morphological departure from normal development takes place at about the 9th to 10th hours of development, the age when the germ band normally shortens (BULL 1952). This process takes place more slowly in the lethal embryo and the subsequent differentiation is halted. Comparison of lethal and normal embryos in earlier stages suggests that development in the lethals is slightly slower. A more striking difference in these eggs, however, is the abnormal appearance of the mitotic divisions. From late cleavage stages, and perhaps earlier, there occur bridges between the separating chromosomes. The general appearance of these abnormal mitoses is that of a "sticky" condition of the matrix. There appears to be no indication of loss of chromosomal material, either as fragments left on the metaphase plate or in the cytoplasm.

Therefore it was of interest to see if there occurs a drop in oxygen consumption associated with the cessation of development in the lethals or if a decrease in respiration occurs earlier than this period and might be associated with the abnormal chromosomal behavior. Besides contributing a description of the physiological state of these lethals during development, data on the respiratory pattern may also serve as a guide for the most effective stages in the lethal development in which to make further physiological or biochemical studies. These, in turn, may aid in understanding more clearly the primary effects of the lethality.

Materials and Methods.

The embryonic lethality studied in this investigation occurs in flies homozygous for the $Df(2)vg^B$ deficiency. This deficiency includes the locus of the gene *vestigial* at 67.0 in the right arm of the second chromosome and has been shown to be a loss of 28 bands of the salivary gland chromosome from the right of 49 D (initial dark compound band) to the middle of 50 A, a compound capsule (MORGAN, BRIDGES and SCHULTZ 1938). This stock has been carried balanced with the *Curly* chromosome, which contains two inversions as well as a gene causing early larval lethality. Since the *Cy* homozygotes are lethal and would not serve as satisfactory normal controls, the balanced lethal stock was outcrossed to the wild type Sevelen stock and the $F_1 +/Df(2)vg^B$ flies interbred to obtain eggs for the experiments. The eggs of the genotypes $+/+$ and $+/Df(2)vg^B$ served as normal controls.

The eggs were collected on small pieces of heavily yeasted cornmeal-agar-sugar-yeast food over a period of one-half hour, so all ages are ± 15 minutes. They were allowed to develop for varying lengths of time in an incubator in which the temperature ranged between 25–26° C. During the actual measurements, the temperature was controlled by a water bath which averaged $25.07 \pm 0.11^\circ$ C. The extremes of temperature for all experiments were 24.7 and 25.5° C. The eggs were at room temperature for about an hour during the loading of the capillaries.

Oxygen consumption of single eggs was measured in a capillary microrespirometer according to the method described by CHEN (1951). However, since the total volume changes are very small, the eggs were placed directly into the capillary tube, rather than into an attached chamber (INHELDER 1949). The internal diameter of the capillaries used primarily for eggs younger than 12 hours of development ranged from 0.278 to 0.311 mm. and for older eggs, which consumed more oxygen, from 0.322 to 0.360 mm. Although calculations showed that there was enough oxygen in the tubes to support respiration over the two hours of the experiment, the amount of oxygen consumed by the older eggs when placed in the smaller capillaries

decreased during the second hour. In such cases only the value for the first hour is used, and for consistency the second hour value was also dropped in all the normal eggs older than $15\frac{1}{4}$ hours.

The eggs were washed in alcohol and distilled water and let dry before being introduced by means of a fine glass needle into the capillary tube. The absorption liquid (20% NaOH), as well as the sealing drop of paraffin oil, was sucked into the tube by capillary action. Then the other end was sealed with melted vaseline. Two to four eggs were measured in each two hour experiment. The capillary tubes were placed on a holder in the water bath and the system allowed to come to equilibrium. It usually took about one half hour before the blank capillary showed no change over a ten minute interval.

Then the changes in the position of the menisci in the tubes were read every 10 minutes under the scale of an ocular micrometer. In all cases the movement was fairly regular during the course of the experiment. After each hour the movement of the fluid in the blank capillary was checked and the experimental values corrected. In the majority of cases the volume change in the control capillary was less than 0.003 cu.mm. per hour, and in the six experiments in which the correction was greater than this, the value did not exceed 0.005 cu.mm.

After each experiment the eggs were removed from the tubes, dechorionated with 3% NaOCl solution (SLIFER 1945), staged, and the subsequent development in *Drosophila ringer's* solution observed. Of the 72 normal eggs so treated, 70 hatched. In both the retarded cases organogenesis had taken place, but abnormal development of the mouth hooks prevented the larvae from breaking through the egg membrane. All of the lethals had the characteristic morphology described for this lethal type (BULL 1952).

In this earlier work it was shown that the lethal condition characteristic for this deficiency occurs in 25.5% of the fertile eggs collected from flies of the genotype $CyL^{A}sp^{2}/Df(2)vg^{B}$. Classification of 111 control eggs from the present matings $+/Df(2)vg^{B} \times +/Df(2)vg^{B}$ yielded 25.2% lethals. Only 6.3% of the normal *Sevelen* control eggs failed to hatch and since these embryos were nearly all fully differentiated, the slight abnormalities in development may have been due to handling or too rapid chemical dechoriation in very young stages. Among the 71 unselected eggs measured for oxygen consumption, 21.1% were typical of the lethals.

In the course of the experiments occasionally an unfertilized egg was measured. These were identified by the characteristic droplet formation of particles of the egg mass, and the tendency of the egg to split into spherical parts (SONNENBLICK 1950). Three experiments were also run on eggs laid by virgin females (Table 2), and the oxygen consumption was of the same degree as in those designated infertile by external examination.

In four experiments eggs were killed by heating to a temperature between 80° C and boiling. Only in three cases (Table 2) did the killed eggs show a positive value and in the largest two of these cases the eggs had broken in the capillary and dried during the course of the measurement. This may have produced the slight volume change of 0.002–0.003 cu.mm. obtained.

Experimental results.

The oxygen consumption during the embryonic development of lethal embryos of the genotype $Df(2)vg^{B}/Df(2)vg^{B}$ diverges from that of normal eggs [$+/+$ and $+/Df(2)vg^{B}$] during the second half of the developmental period (Fig. 1). After the embryos have shortened, by the 11th hour of development, the normal curve rises from a value of 0.0354 cu.mm. O_2 consumed per embryo per hour (value is an average of the 9–12 hour measurements) to 0.0478 cu.mm. during the 17–20 hour period (Table 1). Individual rates were as high as 0.0495 cu.mm. (Fig. 1). On the other hand the oxygen consumption for the lethal eggs had already dropped to 0.0216 cu.mm. during the 10–13 hour period and to a low point of 0.0166 cu.mm. during the 14th through 17th hours. The average for the lethals from the 14th–26th hour was 0.0192 cu.mm.

Since, during the later half of development, the lethals become morphologically abnormal and further differentiation ceases, there is a direct correspondence

between the morphological and physiological indications of abnormality (Fig. 1). The lethal, however, maintains a fairly constant rate of oxygen utilization up to at least 50 hours after egg laying. Histological study of these older embryos shows many pycnotic nuclei and general signs of deterioration. However, the ectoderm and the anterior and posterior section of the gut appear to be intact.

Is it possible to say that the first decrease of oxygen consumption in the lethals is associated with the cytological disturbance? Unfortunately, this cannot be definitely determined from the present data, but the suggestion is that the physiological departure from normal, as indicated by the decrease in oxygen consumption, may take place to a slight degree after the sticky mitoses first occur, two hours or earlier after egg laying. But the difference between the respiratory values for normal and lethal eggs is actually not statistically significant until the measurements for the 8th hour are included ($p < 0.05$).

Although the average rate of oxygen consumption for the unfertilized eggs is lower than for the normals during the second hour (Tables 1, 2), the individual values overlap. It seems, therefore, that unfertilized eggs respire at a comparable rate to the normals during the first two hours after they are laid. The oxygen consumption then decreases rapidly during the next few hours, so that by the 5th hour the rate is lower than any of the values obtained for the lethal eggs. The decrease subsequent to the 7th hour is more gradual, so that even by the 22nd hour these eggs

Table 1. Average values of oxygen consumption in normal and lethal *Drosophila melanogaster* eggs throughout development. Computed for overlapping four-hour intervals.

Age in hours after laying	Normal		Lethal	
	n	O ₂ consumption cu. mm./hr. per egg	n	O ₂ consumption cu. mm./hr. per egg
1-4	19	0.0268	4	0.0272
2-5	24	0.0288	4	0.0272
3-6	20	0.0313	6	0.0296
4-7	24	0.0333	6	0.0316
5-8	32	0.0332	8	0.0304
6-9	29	0.0326	10	0.0305
7-10	24	0.0331	8	0.0292
8-11	13	0.0333	5	0.0275
9-12	7	0.0354	4	0.0273
10-13	7	0.0358	4	0.0216
11-14	5	0.0367	6	0.0178
12-15	10	0.0388	8	0.0179
13-16	9	0.0393	9	0.0172
14-17	7	0.0406	7	0.0166
15-18	7	0.0424	6	0.0178
16-19	3	0.0475	6	0.0185
17-20	5	0.0478	4	0.0185
18-21			5	0.0188
19-22			3	0.0204
20-23			2	0.0213
23-26			3	0.0217
49			3	0.0158

Table 2. Oxygen consumption in unfertilized and killed eggs of *Drosophila melanogaster* at 25°C.

Age in hours	Stock	Unfertilized eggs		Killed eggs
		n	Average O ₂ consumption cu. mm./hr./egg	Individual values O ₂ consumption cu. mm./hr./egg
2 ³ ₄	+/ <i>vg</i> ^B	3	0.0239	
	<i>Cy/vg</i> ^B	3	0.0256	
3	+/ <i>vg</i> ^B	3	0.0195 ¹	0.0019 ²
4	+/ <i>vg</i> ^B	3	0.0170 ¹	0.00017
5 ¹ ₄	+/ <i>vg</i> ^B	2	0.0152	
6 ³ ₄	+/ <i>vg</i> ^B	1	0.0084	
7	<i>Cy/vg</i> ^B	2	0.0108	
12 ¹ ₂	+/ <i>vg</i> ^B	1	0.0108	
19 ¹ ₄	+/ <i>vg</i> ^B	1	0.0085	
22	+/ <i>vg</i> ^B	3	0.0064 ¹	-0.0016
26	+/ <i>vg</i> ^B			-0.00023
				0.0027 ²
49	+/ <i>vg</i> ^B			-0.0008
Average			0.0134	0.00036

¹ Eggs laid by virgin females.

² Eggs broken and dried during experiment.

to the 7th hour is more gradual, so that even by the 22nd hour these eggs

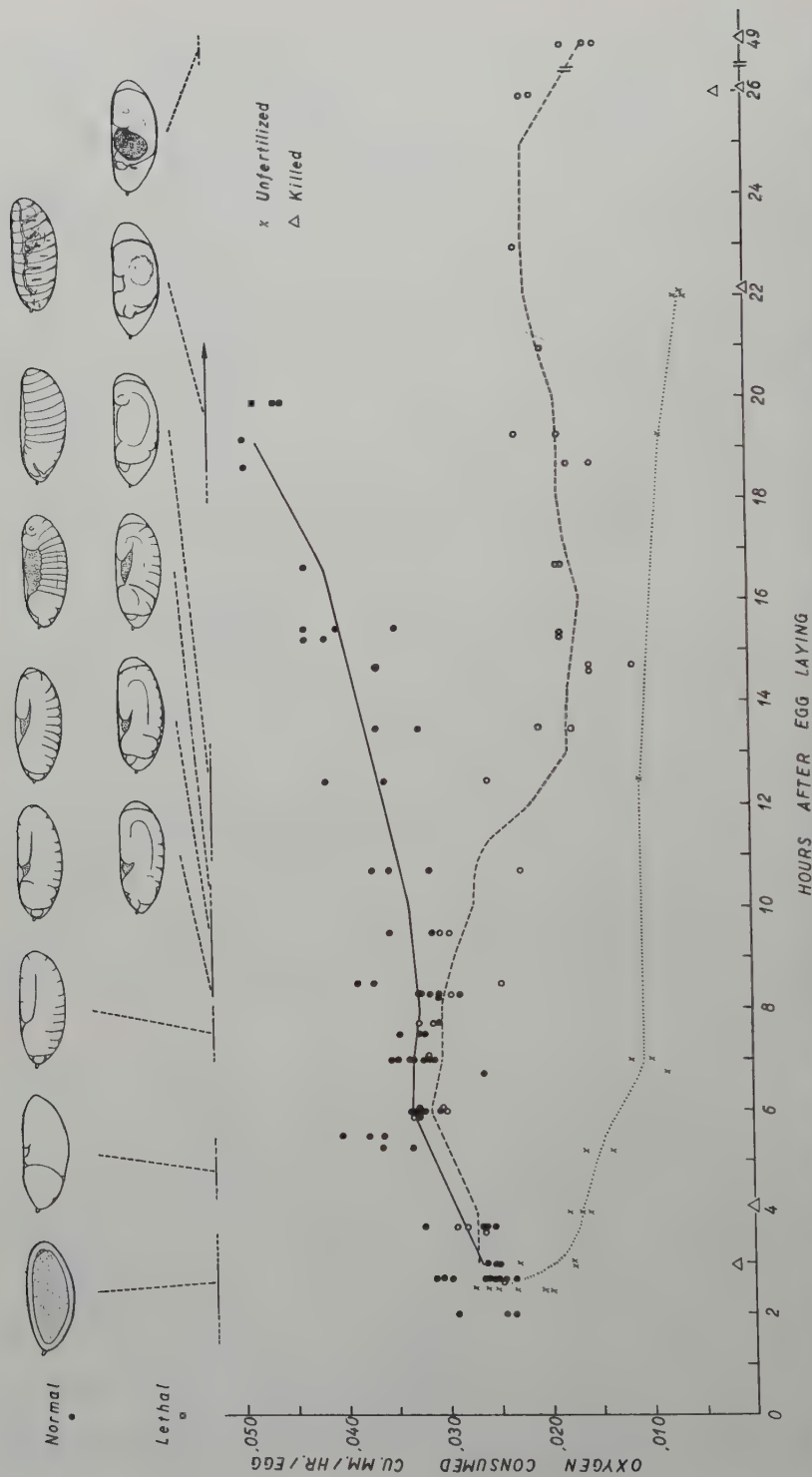


Fig. 1. A comparison of the oxygen consumption in normal (+/+), and +/Df(2)vg B), lethal (Df(2)vg B), and +/Df(2)vg B), Df(2)vg B) and unfertilized *Drosophila melanogaster* eggs during development. Control values for eggs killed by heating are also given. Drawings of the general morphological features of normal and lethal embryos demonstrate the period when developmental arrest occurs in the lethal eggs.

show a measurable rate of oxygen consumption. The value is $1/3$ that of the lethal embryos of the same age.

Discussion.

The data presented above on the oxygen consumption of an embryonic lethal in *Drosophila melanogaster* show an increase in respiratory rate of the same degree as in the normal controls during the period before the onset of lethality. This is followed by a slight decrease accompanying the first appearance of morphological abnormality, and then a more rapid decrease as development ceases. In the final phase the lethals respire at an equilibrium value which is higher than that for the unfertilized egg. They maintain this level for a fairly long period.

Further studies that might be made on these eggs, such as the effect upon the respiration of the lethal embryos of various respiratory inhibitors such as cyanide or carbon monoxide or stimulators as methylene blue, might lead to a better understanding of the physiology of their development. Such investigations might elucidate the nature of the enzyme systems which may be functioning abnormally in the lethal eggs.

The correlation of decrease in oxygen consumption and the onset of lethality has been shown in a number of other cases. BOELL and POULSON's study of the respiratory rate of *YY* eggs (1939) showed that the decline in oxygen consumption coincided in time with developmental failure. They also observed an equilibrium value which was in their case $1/5$ the normal value and was maintained for at least 14 hours. CHEN's analysis (1951) of larval and pupal lethals also indicated that a lower oxygen consumption accompanied larval retardation of growth. In the *ltr* and *lgl* mutants the respiratory rate falls off rapidly during pupal development and then maintains a constant level. There is some additional evidence here to support the thesis that the oxygen consumption is directly correlated with the degree and time of developmental arrest. In some cases the *ltr/ltr* lethals undergo partial metamorphosis and in these cases their respiration is higher than those which undergo no metamorphosis.

A third example of this pattern comes from a different organism. CHEN (1953) followed the rate of oxygen consumption in the lethal hybrids between *Triton* ♀ and *Salamandra* ♂. It was previously shown that such hybrids develop normally only up to the late blastula and development ceases at gastrulation (SCHÖNMANN 1938). The hybrids show abnormal cellular divisions at 23–29 hours after fertilization (18° C). At this time the rate of respiration is already lower than in the controls, but earlier stages have not yet been measured to see when this difference arises. Following the initial decrease in oxygen consumed these lethal hybrids respire even beyond 70 hours.

As has been shown to be the situation for the action of lethal mutants in general (HADORN and CHEN 1952), there appears to be a definite phase specificity involved in all these cases also. The lethal systems are unable to surmount some particular step in the developmental sequence. In the present case it is the normal shortening of the embryos and the subsequent involution about the stomodeum and later differentiation. In the amphibian hybrids gastrulation fails to take place. For the *ltr* and *lgl* lethals the block comes at pupal metamorphosis. Although it seems clear in the above examples that the lethal mutants cease development

at some phase which may involve greater energy utilization, there is still the question unanswered as to whether the drop in respiration causes the barrier or whether it is only a secondary manifestation of the cessation of development due to some other factor.

The subsequent maintenance of a lower respiratory rate may be due to the persistence of some normal cells in the lethal system, to a less efficient activity of all the cells or to histolytic processes. Evidence that the first condition is possible is derived from the normal appearance of the dorsal lip cells in the amphibian hybrid embryos, although in general there is much pycnosis and disintegration. Moreover, LÜTHI (1938) has shown that pieces of the animal hemisphere of such lethals can develop further if transplanted to a normal environment. In the lethal embryos of *Drosophila* resulting from the vg^B deficiency, the ectodermal derivatives may contain living cells. However, their potencies could be checked only if a technique for transplanting insect embryonic material can be used.

Table 3. Comparative values for oxygen consumption during the development of the egg of *Drosophila melanogaster*. Values expressed as cu.mm. O_2 consumed per hour per egg.

Author	Method	Stock	Average hours		Average hours	
			n	1-12	n	13-hatching
BOELL and POULSON 1939	Cartesian diver	$\frac{+}{+}$		0.026		
BULL and SIPPEL, unpubl.	Cartesian diver	$\frac{CyL^4sp^2}{++++}, \frac{+}{+}$	4	0.0282	4	0.0382
INHELDER 1949, unpubl. .	Capillary	Berlin-Inbred	12	0.0285	11	0.0432
Present study.	Capillary	$\frac{Df(2)vg^B}{+}, \frac{+}{+}$	58	0.0320	14	0.0411
Present study.	Capillary	$\frac{Df(2)vg^B}{Df(2)vg^B}$	16	0.0289	15	0.0188

A number of factors, such as temperature, genotype or age differences, may cause variation in the absolute rates for egg respiration. Moreover, values may vary to some extent if different techniques of measurement are used. Considering these possibilities it is interesting to note that in general the rates of oxygen consumption for *Drosophila* eggs obtained in a few other experiments reported previously agree fairly closely with those given here (Table 3). A comparison of the average values for the first twelve and last twelve hours of development has been made from the data available. The average value of oxygen consumed per hour during the first twelve hours of embryonic development varies from 0.026 cu.mm. obtained by BOELL and POULSON (1939) to 0.032 cu.mm. reported in the present work. This difference is not greater than some of the individual variation in the present experiments. It is interesting to note that INHELDER (1949) using the capillary microrespirometer and BULL and SIPPEL (unpubl.) in a preliminary experiment with the Cartesian diver obtained average values differing by only 0.0003 cu.mm. The average rates of 0.0432 reported by INHELDER for the second half of development and 0.0411 cu.mm. obtained here agree remarkably well.

Future work is needed to determine if the normal increase in oxygen consumption for the *Drosophila* embryo rises proportionately with time or if a plateau

actually does occur after about six hours of development. At this time we shall only point out that in a number of other insects, the respiratory curve does not rise linearly throughout all the developmental period (FINK 1925, BODINE 1929, BURKHOLDER 1934). TUFT (1949) describes a small decrease in the oxygen consumption in *Rhodnius* during the early post-revolution phase when mitotic divisions decrease and the embryo spreads out over the yolk. The grasshopper embryo studied by BODINE and his coworkers is a special case because of the intervention of diapause during the embryonic development.

Until more data are obtained on newly laid eggs from virgin females, little can be said concerning the apparently high initial respiratory value for the unfertilized eggs. Indeed, BOELL and POULSON (1939) found a lower rate, about 0.015 cu.mm. for the younger eggs. But if the newly laid unfertilized *Dipteran* egg has an essentially normal respiration, and so would differ from the eggs of other organisms in which the respiration rises after fertilization, the active metabolism during this period may be related to the highly determined and very rapid early development of this type of insect egg.

Summary.

1. A simple capillary microrespirometer was used to compare the oxygen consumption of normal, $+/+$ and $+/Df(2)vg^B$, eggs of *Drosophila melanogaster* with that in the embryonic lethal type $Df(2)vg^B/Df(2)vg^B$ throughout development.

2. The oxygen consumed per hour per egg for the normals rose from an average value of 0.0268 cu.mm. during the first four hours of development to a value of 0.0478 cu.mm. during the 17th to 20th hour period.

3. There also occurred an increase in oxygen consumed by the lethal embryos during the first seven hours of development which did not differ significantly from the normal increase. After the eighth hour the rate of oxygen consumption for the homozygous deficient eggs decreased to a value of about 0.018 cu.mm. after the 14th hour of development. Approximately this level of oxygen utilization was then maintained through the normal development period. In eggs 49 hours old the rate was still 0.016 cu.mm.

4. The respiratory rate for unfertilized eggs, which was only slightly lower than that for the controls during the second hour, decreased rapidly during the subsequent four hours of aging to a value of 0.011 cu.mm. The decrease to a rate of 0.0064 cu.mm. at 22 hours was more gradual. The oxygen consumed by the unfertilized eggs during the latter half of development was $\frac{1}{3}$ to $\frac{1}{2}$ that for the lethal embryos.

Literature.

BODINE, J. H.: Factors influencing the rate of respiratory metabolism of a developing egg (*Orthoptera*). *Physiologic. Zool.* **2**, 459 (1929). — BOELL, E. J., and D. F. POULSON: The respiratory metabolism of normal and genetically deficient eggs of *Drosophila melanogaster*. *Anat. Rec.* **75**, 65 (1939). — A comparative study of cholinesterase activity in normal and genetically deficient strains of *Drosophila melanogaster*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole* **91**, 228 (1946). — BULL, A. L.: Embryonic lethality in *Drosophila melanogaster* produced by overlapping deficiencies at the vestigial locus. *Diss. Yale University* 1952. — BULL, A. L., and T. O. SIPPPEL: Unpublished (1951). — BURKHOLDER, J. R.: A quantitative study of respiratory metabolism in single developing eggs (*Orthoptera*). *Physiologic. Zool.* **7**, 247

(1934). — CHEN, P. S.: A comparative study of the oxygen consumption in the three lethal mutants "*ltr*", "*lgl*", and "*lme*" of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **84**, 38 (1951). — The rate of oxygen consumption in the lethal hybrid between *Triton* ♀ and *Salamandra* ♂. Exper. Cell. Res. **5**, 275 (1953). — FINK, D. E.: Metabolism during embryonic and metamorphic development of insects. J. Gen. Physiol. **7**, 527 (1925). — GLUECKSOHN-WAELSCH, S.: Physiological genetics of the mouse. Adv. Genet. **4**, 1 (1951). — HADORN, E.: Developmental action of lethal factors in *Drosophila*. Adv. Genet. **4**, 53 (1951). — HADORN, E., and P. S. CHEN: Untersuchungen zur Phasenspezifität der Wirkung von Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **27**, 147 (1952). — HADORN, E., and E. STUMM-ZOLLINGER: Untersuchungen zur biochemischen Auswirkung der Mutation "letal-translucida" (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **60**, 506 (1953). — INHELDER, E.: Atmungsintensität von *Drosophila melanogaster* während der Embryonal- und Larvenentwicklung. Diplomarbeit, Univ. Zürich 1949. — KALISS, N.: The effect on development of a lethal deficiency in *Drosophila melanogaster*: with a description of the normal embryo at the time hatching. Genetics **24**, 244 (1939). — LÜTHI, H. R.: Die Differenzierungsleistungen von Transplantaten der letalen Bastardkombination *Triton* ♀ × *Salamandra* ♂. Roux' Arch. **138**, 423 (1938). — MORGAN, T. H., C. B. BRIDGES, and J. SCHULTZ: Constitution of the germinal material in relation to heredity. Carnegie Inst. Wash. Yr. Bk. **37**, 304 (1938). — POULSON, D. F.: The effects of certain X-chromosome deficiencies on the embryonic development of *Drosophila melanogaster*. J. of Exper. Zool. **83**, 271 (1940). — SCHÖNMANN, W.: Der diploide Bastard *Triton palmatus* ♀ × *Salamandra* ♂. Roux' Arch. **138**, 345 (1938). — SLIFER, E. H.: Removing the shell from living grasshopper eggs. Science (Lancaster, Pa.) **102**, 282 (1945). — SONNENBLICK, B. P.: The early embryology of *Drosophila melanogaster*. Biology of *Drosophila*. Ed. M. Demerec. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1950. — TUFT, P. H.: Respiration, growth, and metabolism of the insect egg. Exper. Cell Res., Suppl. **1**, 545 (1949).

ALICE LOUISE BULL, Mount Holyoke College, South Hadley, Mass., USA.

Aus dem Botanischen Institut Freiburg i. Br.

ANWENDUNG VON HOTELLINGS VERALLGEMEINERTEM T -TEST ZUR PRÜFUNG DER DIFFERENZ ZWEIER MITTELWERTEPAARE.

Von

PETER IHM.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. November 1953.)

1. Wir haben oftmals zwei alternative Hypothesen zu prüfen, wovon die eine lautet, daß die Erwartungswerte eines Merkmales in zwei Stichproben die gleichen sind, die andere, daß sie verschieden sind. Ist der Umfang der Stichproben sehr groß, so darf die Differenz der beiden arithmetischen Mittel, \bar{x}' und \bar{x}'' , unter recht allgemeinen Voraussetzungen als normalverteilt mit dem Erwartungswerte $E(\bar{x}') - E(\bar{x}'') = m' - m''$ und der Varianz σ^2 , die aus der Stichprobe bestimmt werden kann, betrachtet werden. Genügen die Merkmalsgrößen, die wir x' in der einen, x'' in der anderen Stichprobe nennen wollen, einer Normalverteilung, so liefert STUDENTS t -Test für beliebigen Stichprobenumfang das beste Kriterium, sofern vorausgesetzt werden kann, daß die Varianzen von x' und x'' die gleichen sind. Die Gültigkeit dieser Voraussetzung ist oftmals nicht exakt genug nachprüfbar, und es erhob sich recht bald die Frage, ob man sich von einer derartig einengenden Voraussetzung nicht freimachen könne. Eine erste Lösung stammt von BEHRENS (1929), dem Wiederentdecker des t -Testes; sie wurde von FISHER unter Anwendung des Fiduzialschlusses vervollkommenet (vgl. dazu FISHER und YATES 1943). Einen anderen Weg beschritt WELCH (1938), der mittels einer Approximation die Frage untersuchte, inwieweit die Verteilung von STUDENTS t beeinflusst wird, wenn die Varianzen von x' und x'' verschieden sind.

Wir sind bisher davon ausgegangen, daß wir es jeweils mit einem Merkmal zu tun haben. Messen wir jedoch an den Individuen der beiden Stichproben jeweils p -Merkmale, $x'_1, x'_2, \dots, x'_p, x''_1, x''_2, \dots, x''_p$, die alle als normalverteilt angenommen seien, so können wir wieder zwei alternative Hypothesen aufstellen. Die eine Hypothese H_0 bedeutet, daß die Erwartungswerte für jedes der p -Merkmale in beiden Stichproben die gleichen sind; die andere Hypothese H_1 sagt aus, daß dies nicht der Fall ist. Es wurde von WILKS (1932) gezeigt, daß in diesem Falle das beste Kriterium durch den von HOTELLING (1931) angegebenen verallgemeinerten T -Test geliefert wird. Leider ist dieser Test kaum in Gebrauch gekommen. Er steht in engstem Zusammenhange mit dem von MAHALANOBIS eingeführten *verallgemeinertem Abstand* D^2 (vgl. zu D^2 RAO 1952) und stellt ein Kriterium für die Frage dar, ob der standardisierte Abstand zwischen den beiden Punkten, deren Koordinaten die Erwartungswerte der p -Merkmale der Stichproben bilden, signifikant ist. In der vorliegenden Arbeit möchte ich die Anwendung dieses Tests für zwei Merkmale an einem Beispiel illustrieren und einige Fragen behandeln, die sich erheben, wenn die weiter unten angegebenen Voraussetzungen dieses Tests nicht erfüllt sind. In einem bestimmten Falle wird mittels der von WELCH (1938) angegebenen Approximation ein Intervall angegeben, in dem die Irrtumswahrscheinlichkeit beim Akzeptieren von H_0 liegt.

Die Resultate sind in einem Anhang zu dieser Arbeit begründet, auf dessen Lektüre ohne Gefahr einer Minderung des Verständnisses verzichtet werden kann.

2. Wir wollen annehmen, daß zwei Stichproben mit n' bzw. n'' Individuen erhoben wurden, $n' + n'' = N$. An jedem Individuum seien zwei Merkmale gemessen, deren Größe im Falle der ersten Stichprobe mit x'_j und y'_j ($j = 1, 2, \dots, n'$), im Falle der zweiten Stichprobe x''_j und y''_j ($j = 1, 2, \dots, n''$) bezeichnet seien. Wir nehmen an, daß x' , y' , x'' und y'' normalverteilt sind mit den Erwartungswerten $E(x') = m'_x$, $E(y') = m'_y$, $E(x'') = m''_x$ und $E(y'') = m''_y$. Hinsichtlich der anderen Parameter der zweidimensionalen Normalverteilung wollen wir drei Fälle unterscheiden:

A: x' , x'' , y' und y'' haben beliebige Varianzen $\sigma'^2_x, \sigma''^2_x, \sigma'^2_y$ und σ''^2_y ; der Korrelationskoeffizient von x' mit y' sei ρ' , der von x'' mit y'' sei ρ'' . Es ist $\rho' = \rho''$ oder $\rho' \neq \rho''$.

B: Es gelte für eine positive Zahl Θ $\sigma'^2_x = \Theta \sigma''^2_x$, $\sigma'^2_y = \Theta \sigma''^2_y$, außerdem $\rho' = \rho''$.

C: Es gelte $\sigma'^2_x = \sigma''^2_x = \sigma^2_x$, $\sigma'^2_y = \sigma''^2_y = \sigma^2_y$ und $\rho' = \rho'' = \rho$.

In den nächsten Abschnitten seien die Fälle A, B und C im einzelnen besprochen.

3. Im Falle C gilt HOTELLINGS verallgemeinertes T genau. Wir bezeichnen das Zahlenpaar (m'_x, m'_y) mit m' , das Zahlenpaar (m''_x, m''_y) mit m'' und verstehen unter $m' = m''$ die Gültigkeit der beiden Gleichungen $m'_x = m''_x$, $m'_y = m''_y$, unter $m' \neq m''$ aber, daß wenigstens eine der beiden Gleichungen nicht erfüllt ist. Wir formulieren nun zwei alternative Hypothesen: H_0 bedeute $m' = m''$, dagegen sage H_1 aus, daß $m' \neq m''$ ist. Soll unter H_0 die Hypothese $m' - m'' = \delta$ verstanden werden, so lassen sich die x und y durch Addition von Konstanten so transformieren, daß als H_0 wieder die Gleichheit der Erwartungswerte der transformierten Größen getestet werden kann. Es wird in Abschnitt 6 noch untersucht werden, ob überhaupt eine derartige Formulierung sinnvoll ist bzw. wie sie verschärft werden muß. Die Quadrat- und Produktsummen, bezogen auf die arithmetischen Mittel beider Stichproben, sind (Summation über alle j):

$$\left. \begin{aligned} a_{11} &= \sum (x'_j - \bar{x}')^2 + \sum (x''_j - \bar{x}'')^2 \\ a_{22} &= \sum (y'_j - \bar{y}')^2 + \sum (y''_j - \bar{y}'')^2 \\ a_{12} &= \sum (x'_j - \bar{x}') (y'_j - \bar{y}') + \sum (x''_j - \bar{x}'') (y''_j - \bar{y}''), \end{aligned} \right\} \quad (3.1)$$

wobei

$$\left. \begin{aligned} \bar{x}' &= \frac{1}{n'} \sum x'_j, & \bar{x}'' &= \frac{1}{n''} \sum x''_j \\ \bar{y}' &= \frac{1}{n'} \sum y'_j, & \bar{y}'' &= \frac{1}{n''} \sum y''_j. \end{aligned} \right\} \quad (3.2)$$

ist. Die Quadrat- und Produktsummen, bezogen auf die gemeinsamen Mittel beider Merkmale, sind

$$\left. \begin{aligned} a_{11}^* &= a_{11} + \frac{n' n''}{N} d_x^2 \\ a_{22}^* &= a_{22} + \frac{n' n''}{N} d_y^2 \\ a_{12}^* &= a_{12} + \frac{n' n''}{N} d_x d_y \end{aligned} \right\} \quad (3.3)$$

mit $d_x = x' - \bar{x}'$, $d_y = \bar{y}' - \bar{y}''$. Wird weiter noch

$$r^2 = \frac{a_{12}^2}{a_{11} a_{22}} \quad (3.4)$$

gesetzt, so ist HOTELLINGS T für $\nu = (N-2)$ Freiheitsgrade durch

$$T^2 = \frac{n' n'' (N-2)}{N(1-r^2)} \left(\frac{d_x^2}{a_{11}} + \frac{d_y^2}{a_{22}} - \frac{2a_{12} d_x d_y}{a_{11} a_{22}} \right) \quad (3.5)$$

gegeben. Es ist mitunter zweckmäßig, sich einer Größe

$$L = \left(1 + \frac{T^2}{\nu} \right)^{-1} = \frac{a_{11} a_{22} - a_{12}^2}{a_{11}^* a_{22}^* - a_{12}^{*2}} \quad (3.6)$$

zu bedienen, die als L für $\nu = (N-2)$ Freiheitsgrade bezeichnet wird. Sind die Differenzen d_x und d_y beide gleich null, so ist $L = 1$; andernfalls ist stets $0 < L < 1$. Dabei strebt $L \rightarrow 0$, wenn wenigstens eine der Differenzen d_x und d_y gegen ∞ strebt. Die Verteilung von L hängt von dem Parameter

$$\tau^2 = \frac{n' n''}{N(1-q^2)} \left(\frac{\delta_x^2}{\sigma_x^2} + \frac{\delta_y^2}{\sigma_y^2} - \frac{2\rho \delta_x \delta_y}{\sigma_x \sigma_y} \right) \quad (3.7)$$

ab, wobei $\delta_x = m'_x - m''_x$, $\delta_y = m'_y - m''_y$ ist (vgl. RAO 1952, § 2d. 2), und die Wahrscheinlichkeit, daß $L \leq L'$ ist, ist

$$P(L \leq L' | \tau) = e^{-\frac{\tau^2}{2}} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{1}{k!} \left(\frac{\tau^2}{2} \right)^k I_{L'} \left(\frac{\nu-1}{2}, 1+k \right), \quad (3.8)$$

wobei $I_\nu(p, q)$ die unvollständige Beta-Funktion bezeichnet (PEARSON 1934). Für $\tau = 0$ wird (3.8) zu

$$P(L \leq L' | 0) = I_{L'} \left(\frac{\nu-1}{2}, 1 \right) = L'^{\frac{\nu-1}{2}}. \quad (3.9)$$

Man setze nun ein $L' = L_0$ so fest, daß $P(L \leq L_0 | 0) = 1 - \alpha$ wird. Wir formulieren dann folgende Vorschrift: (a) ist $L > L_0$, so akzeptiert man H_0 , (b) ist $L \leq L_0$, so verwirft man H_0 und akzeptiert H_1 . Meist wird $\alpha = 0.95$ oder auch $\alpha = 0.99$ gewählt. $1 - \alpha$ entspricht dann den sog. „ P -Werten“ von 0.05 und 0.01. Die Angabe einer derartigen Vorschrift findet in der NEYMAN-PEARSON-schen Theorie der Signifikanzteste ihre Begründung¹; sie ist für den vorliegenden Fall in Abschnitt 6 näher erläutert. Die Werte von L_0 sind für $\alpha = 0.95$ und $\alpha = 0.99$ in Tabelle 1 für verschiedene Freiheitsgrade angegeben; die entsprechenden Werte von T_0^2 an anderer Stelle (IHM 1954, Tabelle 1).

Beispiel 1. Der Gang der Rechnung sei an einem Beispiel erläutert. Je 10 Nadeln von *Abies alba* und *Abies firma* wurden gemessen. Die Längen und Breiten sind in Tabelle 2 in Millimetern dargestellt. *A. alba* hat im Durchschnitt kürzere und schmalere Nadeln. Sind die Unterschiede signifikant? Die Hypothese H_0 lautet dahin, daß bei beiden Arten Längen und Breiten gleich sind, H_1 dahin, daß Längen und Breiten nicht gleich sind. Wir setzen voraus, daß die unter Fall C angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Die Berechnung von L kann dadurch erleichtert werden, daß man bei beiden Arten bei Länge und Breite einen beliebigen, aber in beiden Stichproben gleichen Betrag abzieht. Dies hat den Vorteil, daß bei der Berechnung der Quadrat- und Produktsummen kleinere Zahlen auftreten. Wir

¹ Vgl. dazu CRAMÉR 1946, KENDALL 1951, in der deutschsprachigen Literatur RICHTER 1950, der das Problem in Anwendung auf die 2×2 -Tafel erläutert hat.

Tabelle 1.

ν	$\alpha=0.95$	$\alpha=0.99$	ν	$\alpha=0.95$	$\alpha=0.99$	ν	$\alpha=0.95$	$\alpha=0.99$
2	0.0025	0.0001	13	0.607	0.464	24	0.771	0.670
3	0.050	0.010	14	0.631	0.492	25	0.780	0.681
4	0.136	0.046	15	0.652	0.518	26	0.787	0.692
5	0.224	0.100	16	0.671	0.541	27	0.794	0.702
6	0.302	0.158	17	0.688	0.562	28	0.801	0.711
7	0.368	0.215	18	0.703	0.582	29	0.807	0.720
8	0.425	0.268	19	0.717	0.599	30	0.813	0.728
9	0.473	0.316	20	0.730	0.616	40	0.858	0.790
10	0.514	0.359	21	0.741	0.631	60	0.903	0.855
11	0.549	0.398	22	0.752	0.645	120	0.951	0.926
12	0.580	0.433	23	0.762	0.658	∞	1.000	1.000

Werte von L_0 für $\alpha=0.95$ und $\alpha=0.99$ für verschiedene Freiheitsgrade. Für $\nu > 120$ erhält man für $\alpha=0.95$ bzw. $\alpha=0.99$ L_0 auf zwei Dezimalen genau nach $L_0 = \nu/(5.99146 + \nu)$ bzw. $L_0 = \nu/(9.21034 + \nu)$.

bezeichnen bei *A. alba* die reduzierte Länge und Breite mit x' bzw. y' , bei *A. firma* mit x'' bzw. y'' . Mit diesen reduzierten Werten rechnet man so, als seien sie die eigentlichen Meßwerte gewesen, denn man kann sich leicht überzeugen, daß L bzw. T^2 vor und nach dieser

Transformation den gleichen Wert haben. x', x'', y', y'' und ihre Quadrate, sowie die Quadrate der Summen $x' + y'$ und $x'' + y''$ sind in Tabelle 3 angegeben (die Längen sind um 10, die Breiten um 1 mm vermindert). Nach (3.2) erhalten wir $\bar{x}' = 5.81$, $\bar{y}' = 0.49$, $\bar{x}'' = 9.09$ und $\bar{y}'' = 0.59$ mm. Wir haben $n' = n'' = 10$. a_{11} (3.1) wird zu

$$a_{11} = \sum x_j'^2 + \sum x_j''^2 - n' \bar{x}'^2 - n'' \bar{x}''^2.$$

Wir erhalten somit

$$a_{11} = 413.21 + 1064.83 - 10(5.81^2 + 9.09^2) = 318.70,$$

analog

$$a_{22} = 2.49 + 3.67 - 10(0.49^2 + 0.59^2) = 0.28.$$

Eine ähnliche Vereinfachung liegt bei a_{12} vor, für das wir

$$a_{12} = \sum x'_j y'_j + \sum x''_j y''_j - n' \bar{x}' \bar{y}' - n'' \bar{x}'' \bar{y}''$$

erhalten. Die Summe der Produkte $x' y'$ und $x'' y''$ ergibt sich ohne einzelne Ausführung der Multiplikation nach dem binomischen Lehrsatz aus der Gleichung

$$\sum x'_j y'_j = \frac{1}{2} \{ \sum (x'_j + y'_j)^2 - \sum x_j'^2 - \sum y_j'^2 \}.$$

Tabelle 3.

<i>A. alba</i>					<i>A. firma</i>				
x'	y'	x'^2	y'^2	$(x' + y')^2$	x''	y''	x''^2	y''^2	$(x'' + y'')^2$
1.3	0.4	1.69	0.16	2.89	14.4	0.6	207.36	0.36	225.00
0.7	0.3	0.59	0.09	1.00	14.0	0.6	196.00	0.36	213.16
8.1	0.6	65.61	0.36	75.69	15.3	0.6	234.09	0.36	252.81
5.1	0.6	26.01	0.36	32.49	12.4	0.5	153.76	0.25	166.41
7.7	0.4	59.29	0.16	65.61	6.0	0.5	36.00	0.25	42.25
9.2	0.6	84.64	0.36	96.04	8.4	0.6	70.56	0.36	81.00
8.5	0.5	72.25	0.25	81.00	6.7	0.8	44.89	0.64	56.25
6.3	0.5	39.69	0.25	46.24	4.2	0.6	17.64	0.36	23.04
5.0	0.5	25.00	0.25	30.25	10.2	0.8	104.04	0.64	121.00
6.2	0.5	38.44	0.25	44.89	—0.7	0.3	0.49	0.09	0.16
58.1	4.9	413.21	2.49	476.10	90.9	5.9	1064.83	3.67	1181.08

Wir erhalten dann

$$\sum x_j' y_j' = \frac{1}{2} (476.10 - 413.21 - 2.49) = 30.20$$

und

$$\sum x_j'' y_j'' = \frac{1}{2} (1181.08 - 1064.83 - 3.67) = 56.49$$

$$a_{12} = 30.20 + 56.49 - 10(5.81 \times 0.49 + 9.09 \times 0.59) = -2.21.$$

Nach (3.3) ergibt sich

$$a_{11}^* = 318.70 + 5(5.81 - 9.09)^2 = 372.49$$

$$a_{22}^* = 0.28 + 5(0.49 - 0.59)^2 = 0.33$$

$$a_{12}^* = -2.21 + 5(5.81 - 9.09)(0.49 - 0.59) = -0.57$$

und nach (3.6)

$$L = \frac{318.70 \times 0.28 - 2.21^2}{372.49 \times 0.33 - 0.57^2} = 0.688.$$

Die Zahl der Freiheitsgrade ist 18. Für $\alpha = 0.95$ finden wir dann in Tabelle I für $\nu = 18$ $L_0 = 0.703$, für $\alpha = 0.99$ $L_0 = 0.582$. Arbeiten wir mit $\alpha = 0.95$, so können wir die Hypothese H_0 verwerfen und H_1 akzeptieren. Hätten wir statt dessen mit $\alpha = 0.99$ gearbeitet, so müßten wir H_0 akzeptieren. Nach (3.9) ist $P(L \leq 0.688 | 0) = 0.688^{8.5} = 0.042$. Dieser Wert ist kleiner als $1 - \alpha = 0.05$, so daß auch hieraus folgt, daß wir H_0 zu verwerfen haben. Es ist mitunter zweckmäßig, 0.042 oder $1 - 0.042 = 0.958$ anzugeben, weil so jeder entscheiden kann, ob er selbst H_0 verworfen hätte oder nicht, je nachdem mit welchem α er zu arbeiten für richtig hält.

Man erhält aus den bereits berechneten Größen leicht STUDENTS t für $N - 2$ Freiheitsgrade, nämlich

$$t_x^2 = (N - 2) \frac{a_{11}^* - a_{11}}{a_{11}}, \quad t_y^2 = (N - 2) \frac{a_{22}^* - a_{22}}{a_{22}}.$$

Im vorliegenden Falle ist $t_x = 1.74$, $t_y = 1.80$; bei 18 Freiheitsgraden hätten wir erst bei $t = 2.10$ die Hypothesen gleicher Nadellängen bzw. -breiten verworfen ($\alpha = 0.95$). Die Unterschiede rühren daher, daß für $\varrho \neq 0$ t_x und t_y nicht unabhängig sind.

4. Wir betrachten nun den Fall A. Auch hier läßt sich ein exakter Test angeben, wenn die Stichproben gleichen Umfang haben, also $n' = n'' = n$ ist. Wir gehen dabei derart vor, daß wir jedem Zahlenpaar (x_j', y_j') nach Zufallsgesetzen ein weiteres Zahlenpaar (x_k'', y_k'') zuordnen und die Differenzen $x_j' - x_k'' = \xi_j$, $y_j' - y_k'' = \eta_j$ bilden. Die Differenzen sind normalverteilt mit den Varianzen $\sigma_x'^2 + \sigma_x''^2 = \sigma_\xi^2$ von ξ , $\sigma_y'^2 + \sigma_y''^2 = \sigma_\eta^2$ von η und dem Korrelationskoeffizienten $\varrho_{\xi, \eta} = (\sigma_x' \sigma_y' \varrho' + \sigma_x'' \sigma_y'' \varrho'') / \sigma_\xi \sigma_\eta$. Der Hypothese H_0 : $m' = m''$ entspricht dann die Hypothese, daß die Erwartungswerte von ξ und η , $E(\xi) = E(\eta) = 0$ sind. Wir setzen

$$\bar{\xi} = \frac{1}{n} \sum \xi_j, \quad \bar{\eta} = \frac{1}{n} \sum \eta_j. \quad (4.1)$$

Weiter erhalten wir die Quadrat- und Produktsummen, bezogen auf $\bar{\xi}$ und $\bar{\eta}$:

$$\left. \begin{aligned} c_{11} &= \sum (\xi_j - \bar{\xi})^2 = \sum \xi_j^2 - n \bar{\xi}^2 \\ c_{22} &= \sum (\eta_j - \bar{\eta})^2 = \sum \eta_j^2 - n \bar{\eta}^2 \\ c_{12} &= \sum (\xi_j - \bar{\xi})(\eta_j - \bar{\eta}) = \sum \xi_j \eta_j - n \bar{\xi} \bar{\eta} \end{aligned} \right\} \quad (4.2)$$

und bezogen auf die Erwartungswerte:

$$\left. \begin{aligned} c_{11}^* &= \sum \xi_j^2 \\ c_{22}^* &= \sum \eta_j^2 \\ c_{12}^* &= \sum \xi_j \eta_j \end{aligned} \right\} \quad (4.3)$$

Es sei außerdem noch

$$r_{\xi, \eta}^2 = \frac{c_{12}^{*2}}{c_{11} c_{22}}. \quad (4.4)$$

HOTELLINGS T für $\nu = n - 1$ Freiheitsgrade ist definiert durch

$$T^2 = \frac{n(n-1)}{1 - r_{\xi, \eta}^2} \left(\frac{\bar{\xi}^2}{c_{11}} + \frac{\bar{\eta}^2}{c_{22}} - \frac{2c_{12} \bar{\xi} \bar{\eta}}{c_{11} c_{22}} \right). \quad (4.5)$$

Für L gilt dann

$$L = \frac{c_{11} c_{22} - c_{12}^2}{c_{11}^* c_{12}^* - c_{12}^{*2}}. \quad (4.6)$$

Ist für ein vorgegebenes α ein L_0 so definiert, daß $P(L \leq L_0 | 0) = 1 - \alpha$ wird, so verwerfen wir H_0 und akzeptieren H_1 , wenn $L \leq L_0$ ist. Ist dagegen $L > L_0$, so akzeptieren wir H_0 .

Beispiel 2. Den in Tabelle 1 angegebenen Nadellängen und -breiten von *A. alba* ordnen wir zufallsmäßig je ein Längen-Breitenpaar von *A. firma* zu. Dies kann durch das Ziehen

Tabelle 4.

<i>Abies alba</i>		<i>Abies firma</i>		Differenzen	
Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
11.3	1.4	18.4	1.6	-7.1	-0.2
10.7	1.3	9.3	1.3	1.4	0
18.1	1.6	14.2	1.6	3.9	0
15.1	1.6	20.2	1.8	-5.1	-0.2
17.7	1.4	24.4	1.6	-6.7	-0.2
19.2	1.6	16.0	1.5	3.2	0.1
18.5	1.5	16.7	1.8	1.8	-0.3
16.3	1.5	25.3	1.6	-9.0	-0.1
15.0	1.5	24.0	1.6	-9.0	-0.1
16.2	1.5	22.4	1.5	-6.2	0

von Karten geschehen, die die Nummern 1 bis 10 tragen oder mittels der üblichen Tafeln von Zufallszahlen (z. B. FISHER und YATES 1943). Wir erhalten dann die Werte der Tabelle 4. Tragen die Wertepaare von *A. firma* die Indizes 1, 2, ..., 10, so sind sie jetzt in der Reihenfolge 6, 10, 8, 9, 1, 5, 7, 3, 2, 4 den Wertepaaren von *A. alba* zugeordnet. Die Differenzen ξ_j und η_j stehen in den letzten beiden Spalten. Wir erhalten nach (4.1) $\bar{\xi} = -3.28$ und $\bar{\eta} = -0.10$. Wir wollen die Hypothese $H_0: E(\xi) - E(\eta) = 0$ testen. Nach (4.3) erhalten wir $c_{11}^* = 352.40$, $c_{22}^* = 0.24$, $c_{12}^* = 5.36$, weiter nach (4.2) $c_{11} = 244.82$, $c_{22} = 0.14$, $c_{12} = 2.08$. Nach (4.6) ergibt sich dann

$$L = \frac{244.82 \times 0.14 - 2.08^2}{352.40 \times 0.24 - 5.36^2} = 0.536.$$

In Tabelle 1 findet sich für 9 Freiheitsgrade bei $\alpha = 0.95$ $L_0 = 0.473$. Wir müssen daher H_0 akzeptieren. Dieses von Abschnitt 3 abweichende Resultat soll in Abschnitt 6 seine Erklärung finden.

5. Es wurde bereits in der Einleitung erwähnt, daß HOTELLINGS T zum verallgemeinerten Abstand D^2 in einer bestimmten Beziehung steht. Es seien

δ_x und δ_y wie in Abschnitt 3 die Differenzen der Erwartungswerte von x' , x'' , sowie y' und y'' . Die Größe

$$D^2 = \frac{N}{n'n''} T^2 \quad (5.1)$$

heißt verallgemeinerter Abstand. Der entsprechende Wert der Population ist

$$\Delta^2 = \frac{N}{n'n''} \tau^2$$

(vgl. dazu RAO 1952); T^2 ergibt sich aus (3.5), τ^2 aus (3.7). Führt man für d_x und d_y durch lineare Transformation unabhängige Variable u, v mit Varianz $N/n'n''$ ein, so ist Δ^2 der quadratische Abstand des Punktes $(E(u), E(v))$ vom Nullpunkt.

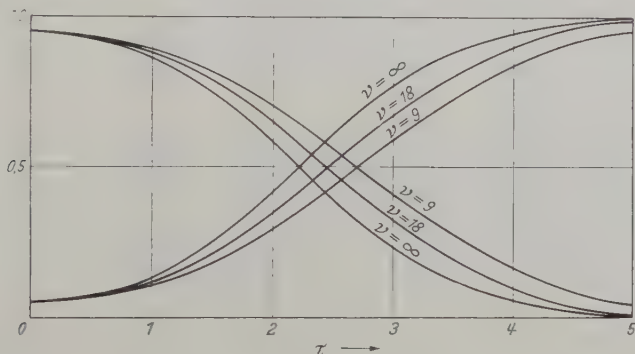


Abb. 1. β (steigende Kurve) und $1-\beta$ (fallende Kurve) für $\alpha = 0,95$ und verschiedene Werte von ν .

Beispiel 3. In Beispiel 1 haben wir nach (3.5) $T^2 = 8.16$ und nach (5.1) $D^2 = 1.632$. Sei H_0 die Hypothese $\Delta^2 = 0$, H_1 die Hypothese $\Delta^2 > 0$, so ermitteln wir das zu L_0 für ν Freiheitsgrade gehörige T_0^2 (vgl. Abschnitt 3) und akzeptieren H_0 , wenn $n'n''D^2/N < T_0^2$ ist, und verwerfen H_0 und akzeptieren H_1 , wenn $n'n''D^2/N \geq T_0^2$ ist. Der verallgemeinerte Abstand hat in der Anthropologie weite Verbreitung gefunden und dient dort zur Analyse von Rassen usw. Seine Verwendung ist ausführlich bei RAO (1952) dargestellt. Eine andere Lösung des Abstandsproblems wird in Abschnitt 7 versucht.

6. In den Abschnitten 3 und 4 wurde für die Fälle C und A die Vorschrift angegeben, H_0 zu verwerfen und H_1 zu akzeptieren, wenn $L \leq L_0$ ist. Wir können dabei zweierlei Fehler begehen, einmal den, H_0 zu verwerfen, obwohl H_0 zutrifft (*Fehler erster Art*), oder aber, H_0 zu akzeptieren, obwohl H_1 zutrifft (*Fehler zweiter Art*). Die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art ist $1-\alpha$, die eines Fehlers zweiter Art $1-P(L=L_0|\tau) = 1-\beta$ für $\tau > 0$, wobei τ und P durch (3.7) und (3.8) gegeben sind. Für $\alpha = 0.95$ ist $1-\beta$ (fallende Kurven) und β (steigende Kurven) für $\nu \rightarrow \infty$, $\nu = 18$ und $\nu = 9$ in Abb. 1 gegen τ als Abszisseneinheit aufgetragen. Man sieht, daß für alle Kurven $\beta = 0.95$ zwischen $\tau = 4$ und $\tau = 5$ liegt. Ist τ kleiner, so ist die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers zweiter Art, $1-\beta$, größer als 0.05, bis sie sich für $\tau \rightarrow 0$ dem Werte 0.95 nähert. Es ist daher offensichtlich, daß für sehr kleines τ , obwohl es der Hypothese H_1 entspricht, die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers zweiter Art so groß ist, daß wir mit großer Wahrscheinlichkeit H_0 akzeptieren, obwohl H_1 zutrifft. Bezeichnen wir den Wert von τ , für den $1-\beta = 1-\alpha$ ist, mit τ^* , so sehen wir, daß für alle $\tau < \tau^*$

die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers zweiter Art größer als $1 - \alpha$ ist, bis sie für $\tau \rightarrow 0$ ihren maximalen Wert erreicht. Erst für $\tau \geq \tau^*$ ist der Test *stark* in dem Sinne, daß die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers zweiter Art und damit die Irrtumswahrscheinlichkeit überhaupt $1 - \alpha$ geworden ist, wenn wir die Hypothese H_0^* : $\tau < \tau^*$ akzeptieren und die Hypothese H_1^* : $\tau \geq \tau^*$ verwerfen, wenn $L > L_0$ ist und, ist $L \leq L_0$, H_1 : $\tau > 0$ akzeptieren und H_0 : $\tau = 0$ verwerfen. Wir müssen uns also stets vor Augen halten, daß wir unter H_0 die Hypothese H_0^* akzeptieren und nicht H_1 , sondern H_1^* verwerfen, *verwerfen* wir dagegen H_0 , so akzeptieren wir H_1 .

Die Verteilung von L ist von τ abhängig, das seinerseits von δ_x und δ_y und den anderen Parameterwerten abhängt. Kennen wir σ_x , σ_y und ρ bzw. σ_ξ , σ_η und $\rho_{\xi, \eta}$ nicht, so können wir mit Hilfe der angegebenen Methode keine Angabe über die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers zweiter Art in Abhängigkeit von δ_x und δ_y machen, was die Brauchbarkeit des Tests natürlich in hohem Maße beeinträchtigt, sofern nicht ν so groß ist, daß man die Schätzwerte der unbekannten Parameter einsetzen kann.

Beispiel 4. Es wurden Messungen der Kelch- und Kronblattlänge an je 50 Exemplaren von *Iris versicolor* und *Iris setosa* durchgeführt (FISHER 1936). Kelch- und Kronblattlänge seien für *I. versicolor* und *I. setosa* mit x' , y' , x'' und y'' bezeichnet. Es fanden sich (Maße in cm) $\bar{x}' = 5.936$, $\bar{x}'' = 5.006$, $\bar{y}' = 4.260$, $\bar{y}'' = 1.462$, ferner $a_{11} = 19.1434$, $a_{22} = 12.2978$, $a_{12} = 9.7634$. Wir erhalten daraus für σ_x^2 und σ_y^2 die Schätzwerte $s_x^2 = a_{11}/(N-2) = 0.195$, $s_y^2 = a_{22}/(N-2) = 0.125$ und für ρ nach (3.4) $r^2 = 0.405$. Nach (3.7) erhalten wir

$$\tau^2 = \frac{n' n''}{N(1-r^2)} \left(\frac{\delta_x^2}{s_x^2} + \frac{\delta_y^2}{s_y^2} - \frac{2r \delta_x \delta_y}{s_x s_y} \right).$$

τ^2 ist demnach konstant für alle Punkte (δ_x, δ_y) , die auf der Peripherie einer Ellipse liegen, die nach Drehung der Abszisse um den Winkel $\varphi = \frac{1}{2} \arctan \frac{2a_{12}}{a_{11} - a_{22}}$ im neuen δ_x^* , δ_y^* -System die Gleichung $(\delta_x^*/a)^2 + (\delta_y^*/b)^2 = 1$ hat, wobei

$$a^2 = (1-r^2) N \left\{ n' n'' \left(\frac{\cos^2 \varphi}{s_x^2} + \frac{\sin^2 \varphi}{s_y^2} - \frac{r \sin 2\varphi}{s_x s_y} \right) \right\},$$

$$b^2 = (1-r^2) N \left\{ n' n'' \left(\frac{\sin^2 \varphi}{s_x^2} + \frac{\cos^2 \varphi}{s_y^2} + \frac{r \sin 2\varphi}{s_x s_y} \right) \right\}$$

ist. Die Ellipse ist in Abb. 2 dargestellt, für τ^* wurde in Abb. 1 4.05 gefunden. Mittels der Gl. (3.6) erhalten wir $L = 0.0904$. Wir müssen somit H_0 verwerfen und H_1 akzeptieren. Dies bedeutet, daß wir alle Punkte $(\delta_x, \delta_y) \neq 0$ akzeptieren müssen, und es fragt sich natürlich, ob ein derartiges Vorgehen einen Sinn hat, da man sich ja Punkte in der Nähe des Nullpunktes denken kann, deren Koordinaten Differenzen δ_x , δ_y sind, die man als „praktisch null“ bezeichnen würde. Wäre im vorliegenden Beispiel $L \leq L_0$ gewesen, so hätten wir H_1^* verwerfen und H_0^* akzeptieren müssen und damit alle δ_x und δ_y , die die Koordinaten der Punkte im Innern der Ellipse in Abb. 2 sind. In diesem Falle hätte sich die Frage erhoben, ob die entsprechenden Werte alle „praktisch null“ gewesen wären; denn müßte man die Behauptung „praktisch null oder auch nicht praktisch null“ aufstellen, so ist sie zwar immer richtig, liefert aber zum Problem der Entscheidung zwischen den eingangs formulierten Hypothesen keinen Beitrag.

Das vorangegangene Beispiel zeigt, wie die beiden zu testenden Hypothesen genau formuliert werden müssen. Es konnten dabei σ_y^2 , σ_x^2 und ρ aus dem Material bestimmt werden, und so ist es möglich gewesen, die unter H_0^* fallenden Punkte

(δ_x, δ_y) anzugeben. Sind die Stichproben klein, so ist dies nicht mehr möglich, sondern lediglich eine Angabe über die zu H_0^* gehörigen Werte von τ . Dies stellt, sofern man lediglich den verallgemeinerten Abstand betreffende Hypothesen testen will, kein Hindernis dar. Haben wir wie in Beispiel 4 H_0 verworfen, so sind wir möglicherweise daran interessiert, etwas über die tatsächlichen Werte von δ_x und δ_y zu erfahren, bzw. Behauptungen darüber aufzustellen, bei denen die Wahrscheinlichkeit eines Irrtums $1 - \alpha$ ist. Dies ist ein Problem der *Interval Estimation* und wird gelöst durch die Angabe eines Konfidenzbereiches (vgl. Abschnitt 7).

Das abweichende Ergebnis, das der in Abschnitt 4 angegebene Test mit den Zahlen von Beispiel 1 geliefert hat, wird verständlich, wenn man in (3.7) für

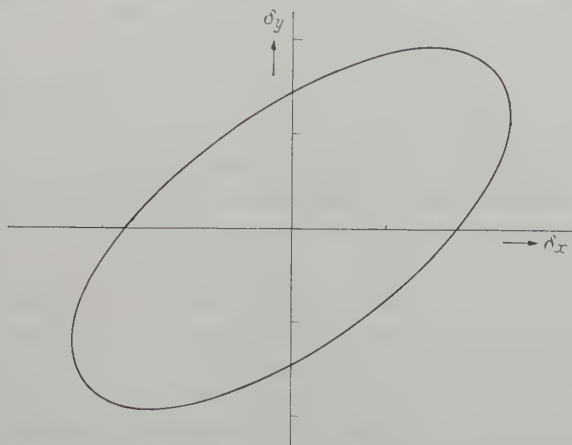


Abb. 2. Zu Beispiel 4: Ellipse, auf deren Peripherie $\tau = \tau^*$ ist. Einheit 0,1 cm.

σ_x, σ_y und $\varrho_{\xi, \eta}$ einsetzt, sowie für $n' n''/N$ die Zahl n . Hätte man unter den Voraussetzungen des Falles C den in Abschnitt 4 angegebenen Test durchgeführt, so hätte bei gleicher Lage die Ellipse, auf deren Peripherie die Punkte (δ_x, δ_y) mit $\tau = \text{const.}$ liegen, Halbachsen, die größer wären, als die für den Test in Abschnitt 3 vorliegenden, da, wie Abb. 1 lehrt, τ^* für 9 Freiheitsgrade größer ist als für 18. Für alle kleineren Ellipsen ist die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers zweiter Art größer als $1 - \alpha$, und wir können somit das abweichende Resultat möglicherweise auf einen Fehler zweiter Art zurückführen.

7. In diesem Abschnitte soll ein Konfidenzbereich für den Punkt angegeben werden, dessen Koordinaten von den Erwartungswerten von d_x und d_y , die wir δ_x und δ_y nennen, gebildet sind; (δ_x, δ_y) werde Erwartungswert der Differenzpaare $(d_x, d_y) = \mathfrak{d}$ genannt. Der Konfidenzschluß besteht darin, nach einer gegebenen Vorschrift einen Bereich anzugeben und zu behaupten, (δ_x, δ_y) läge in diesem Bereiche. Die Wahrscheinlichkeit eines Irrtums ist dabei $1 - \alpha$. Nehmen wir wie in Abschnitt 3 an, daß zwei Stichproben von n' und n'' Individuen erhoben worden seien. Der Konfidenzbereich ist die Ellipse mit dem Mittelpunkt \mathfrak{d} und den Halbachsen der Länge $a T_0$ und $b T_0$, wobei die Halbachse der Länge $a T_0$ mit der Abszisse des δ_x, δ_y -Systems einen Winkel φ bildet. a und b

ergeben sich aus

$$\left. \begin{aligned} a^2 &= (1 - r^2) N \left\{ n' n'' (N - 2) \left(\frac{\cos^2 \varphi}{a_{11}} + \frac{\sin^2 \varphi}{a_{22}} - \frac{a_{12} \sin 2\varphi}{a_{11} a_{22}} \right) \right\} \\ b^2 &= (1 - r^2) N \left\{ n' n'' (N - 2) \left(\frac{\sin^2 \varphi}{a_{11}} + \frac{\cos^2 \varphi}{a_{22}} - \frac{a_{12} \sin 2\varphi}{a_{11} a_{22}} \right) \right\}, \end{aligned} \right\} \quad (7.1)$$

sowie φ ($0 \leq \varphi < 180^\circ$) aus

$$\left. \begin{aligned} \varphi &= 0 && \text{für } a_{12} = 0, \\ \operatorname{tg} 2\varphi &= \frac{2a_{12}}{a_{11} - a_{22}} && \text{für } a_{12} \neq 0. \end{aligned} \right\} \quad (7.2)$$

Im Falle A (Abschnitt 4) ist der Mittelpunkt der Ellipse $\delta = (\bar{\xi}, \bar{\eta})$ und a, b und φ ergeben sich aus (7.1) und (7.2), wenn man a_{pq} durch c_{pq} ersetzt ($p = 1, 2$; $q = 1, 2$), außerdem $n' n'' (N - 2)/N$ durch $(n - 2)/n$, r durch $r_{\xi, \eta}$. Behaupten wir, der Punkt (δ_x, δ_y) läge im Innern der so angegebenen Ellipse, so irren wir uns mit der Wahrscheinlichkeit $1 - \alpha$, wenn T_0 der zu α gehörige Wert von T für ν Freiheitsgrade ist. Der Beweis verläuft ganz analog zu dem in der vorhergehenden Arbeit (IHM 1954) gegebenen und soll hier nicht ausgeführt werden.

Meines Erachtens ist die Angabe eines Konfidenzbereiches für den Erwartungswert eines Differenzenpaares in vielen Fällen dem verallgemeinerten Abstand von MAHALANOBIS überlegen. Stellt letzterer die Länge eines Vektors dar, dessen Koordinaten durch eine bestimmte Transformation aus den Differenzen d_x, d_y bzw. $\bar{\xi}, \bar{\eta}$ hervorgegangen sind (vgl. dazu Abschnitt 5), ist also eine ungerichtete Größe, so ist der angegebene Konfidenzbereich ein Bereich für die Koordinaten eines Vektors und erlaubt somit auch eine Behauptung über die Richtung, weiterhin eine Behauptung über die tatsächliche Größe der Differenzen der Erwartungswerte ohne eine die Anschauung vermindernde Transformation. Es sei aber bemerkt, daß diese Anschaulichkeit bei mehr als drei Merkmalen wieder geopfert wird.

8. Wir wenden uns dem Falle B zu, der, wie in einer folgenden Arbeit gezeigt wird, in Fragen der Populationsforschung auftritt und auch in anderen Fällen von Bedeutung ist. Wären beispielsweise die Nadeln von *A. alba* je einmal, die von *A. firma* je zweimal gemessen worden, so hätte man Fall B mit $\Theta = 1/2$ gehabt. Wird HOTELLINGS Test in diesem Falle in der üblichen Weise durchgeführt, so ist die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art nicht mehr genau $1 - \alpha$, ebenso nicht die Irrtumswahrscheinlichkeit bei einem Konfidenzschluß. In diesem Abschnitte sollen Abschätzungen angegeben werden, die in den meisten Fällen genügen (vgl. dazu den Anhang). Sind zwei Stichproben von gleichem Umfange erhoben worden, ist also $n' = n''$, so wird der Test in seiner üblichen Form kaum beeinflußt, und man kann wie in Abschnitt 3 verfahren. Hingegen ist die Beeinflussung im Falle $n' \neq n''$ so stark, daß der Wert des Testes in Frage gestellt ist. Man wird also stets bestrebt sein, den Umfang beider Stichproben gleich zu halten. Sollte dies nicht möglich sein, so schlage ich in Analogie zu WELCHS w eine Statistik

$$W^2 = \frac{1}{1 - r^{*2}} \left(\frac{d_x^2}{b_{11}} + \frac{d_y^2}{b_{22}} - \frac{2b_{12} d_x d_y}{b_{11} b_{22}} \right) \quad (8.1)$$

vor. Dabei ist für $\nu' = n' - 1$, $\nu' = n'' - 1$

$$\left. \begin{aligned} b_{11} &= \frac{1}{n' \nu'} \sum (x'_j - \bar{x}')^2 + \frac{1}{n'' \nu''} \sum (x''_j - \bar{x}'')^2 \\ b_{22} &= \frac{1}{n' \nu'} \sum (y'_j - \bar{y}')^2 + \frac{1}{n'' \nu''} \sum (y''_j - \bar{y}'')^2 \\ b_{12} &= \frac{1}{n' \nu'} \sum (x'_j - \bar{x}') (y'_j - \bar{y}') + \frac{1}{n'' \nu''} \sum (x''_j - \bar{x}'') (y''_j - \bar{y}'') \end{aligned} \right\} \quad (8.2)$$

und $\nu^{*2} = b_{12}^2 / (b_{11} b_{22})$. Wir verwerfen H_0 , wenn $W^2 \geq T_0^2$ für $N - 2$ Freiheitsgrade ist und akzeptieren H_1 . Ist $W^2 < T_0^2$, so akzeptieren wir H_0 . W^2 hat angenähert die Verteilung von T für

$$\nu^* = \left(\frac{\Theta}{n'} + \frac{1}{n''} \right)^2 \left(\frac{\Theta^2}{n'^2 \nu'} + \frac{1}{n''^2 \nu''} \right) \quad (8.3)$$

Freiheitsgrade. (8.3) hat ein Minimum bei $\Theta = n' \nu' / (n'' \nu'')$, wo sich $\nu^* = N - 2$ findet; für $n' = n''$ liegt es bei $\Theta = 1$. Strebt $\Theta \rightarrow 0$, so strebt $\nu^* \rightarrow \nu''$, strebt $\Theta \rightarrow \infty$, so strebt $\nu^* \rightarrow \nu'$. Wir können die Bezeichnungen der Merkmale so wählen, daß stets $n' \leq n''$ ist. Sei die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art hier mit ε bezeichnet, so gilt für T_0 für α und $N - 2$ Freiheitsgrade

$$1 - \alpha \leq \varepsilon < \left(1 + \frac{T_0^2}{\nu'} \right)^{\frac{\nu' - 1}{2}}. \quad (8.4)$$

Nach dieser Beziehung können wir die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art abschätzen. Man erkennt sofort, daß für $\nu' \rightarrow \infty$ $\varepsilon \rightarrow 1 - \alpha$ strebt; in der Tat hat W^2 für $\nu' \rightarrow \infty$ eine χ^2 -Verteilung für zwei Freiheitsgrade. Aus (8.4) geht hervor, daß $\varepsilon \geq 1 - \alpha$ ist. Es ist für unsere Zwecke aber möglicherweise besser, ein T_0 so zu wählen, daß $\varepsilon < 1 - \alpha$ wird. Ist $T_1 = T_0$ für ν' Freiheitsgrade, so gilt die Beziehung

$$\left(1 + \frac{T_1^2}{N - 2} \right)^{-\frac{N - 3}{2}} \leq \varepsilon < 1 - \alpha. \quad (8.5)$$

Wählen wir also T_1 an Stelle von T_0 , so sind wir sicher, daß die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art kleiner als $1 - \alpha$ ist. W^2 erlaubt auch die Angabe eines Konfidenzbereiches, wobei wir von der in Abschnitt 7 angegebenen Methode Gebrauch machen und in (7.1) und (7.2) a_{pq} durch $b_{pq} n' n'' (N - 2) / N$ ($p = 1, 2$; $q = 1, 2$) ersetzen. Haben wir als Länge der Halbachsen $a T_0$ und $b T_0$ gewählt, so ist die Wahrscheinlichkeit eines Irrtums durch (8.4) gegeben, verwenden wir hingegen T_1 , so durch (8.5).

Anhang.

Zum Beweis der in Abschnitt 8 aufgestellten Behauptungen kann man unter Ausdehnung der erwähnten von WELCH (1938) angegebenen Approximation wie folgt vorgehen. Wir nehmen ohne Einschränkung der Allgemeingültigkeit an, daß die Momentmatrix (Matrix der Varianzen und Kovarianzen) von x'', y''

$$\mathbf{M} = \begin{pmatrix} 1 & \sigma \rho \\ \sigma \rho & \sigma^2 \end{pmatrix}$$

sei, die von $x', y' \Theta \mathbf{M}$ ($\Theta > 0$). Es sollen aleatorische Größen $u_{11}, u_{22}, u_{12} = u_{21}$ ($0 \leq u_{11}, u_{22} < \infty, -\infty \leq u_{12} < \infty$) WISHARTS Verteilung

$$dF_{\mathbf{K}, \nu} = \frac{K^{\frac{\nu}{2}}}{4\pi \Gamma(\nu-1)} |u_{pq}|^{\frac{\nu-3}{2}} \exp \left[-\frac{1}{2} \sum_{p,q} K_{pq} u_{pq} \right] du_{11} du_{12} du_{22} \quad (1)$$

haben (vgl. CRAMÉR 1946, KENDALL 1951, RAO 1952) mit der Momentmatrix \mathbf{K} mit der Determinante K und der inversen Matrix $\mathbf{K}^{-1} = (K_{pq})$. Wir bestimmen eine Verteilung (1) derart, daß sie die ersten beiden Kumulanten der a_{pq} (3.1) hat. Man erhält dann

$$\mathbf{K} = \frac{\nu' \Theta^2 + \nu''}{\nu' \Theta + \nu''} \mathbf{M}. \quad (2)$$

und

$$\nu = \frac{(\nu' \Theta + \nu'')^2}{\nu' \Theta^2 + \nu''} = \nu^*. \quad (3)$$

Die Differenzen d_x und d_y sind normalverteilt mit den Erwartungswerten null und haben die Momentmatrix $\frac{n' + n'' \Theta}{n' n''} \mathbf{M}$.

Führt man für die a_{pq} und d_x, d_y standardisierte Variable s_{pq}, z_1, z_2 ein, so haben die s_{pq} WISHARTS Verteilung (1) mit $\nu = \nu^*$ und

$$\mathbf{K} = \mathbf{K}^* = \begin{pmatrix} 1 & \varrho \\ \varrho & 1 \end{pmatrix},$$

z_1 und z_2 mit Erwartungswerten null eine gemeinsame Normalverteilung mit der Momentmatrix \mathbf{K}^* . Die Größe $Y = |s_{pq}| / |s_{pq} + z_p z_q|$ ist wie L in der Form (3.9) für $\nu = \nu^*$ Freiheitsgrade verteilt (WILKS 1933, oder auch CRAMÉR 1946, KENDALL 1951). Wir finden nach Resubstitution

$$Y = \left(1 + \frac{c T^2}{\nu^*} \right)^{-1},$$

wobei

$$c = \frac{N}{N-2} \cdot \frac{\nu' \Theta + \nu''}{n' + n'' \Theta}$$

ist; T^2 ist durch (3.5) gegeben. Daraus folgt, daß nicht T^2 wie HOTELLINGS T^2 für $N-2$ Freiheitsgrade verteilt ist, sondern $c T^2$ angenähert für ν^* Freiheitsgrade. Für $n' = n''$ ist $c = 1$. Für $\Theta = 1$ können wir ein T_0 für $N-2$ Freiheitsgrade so angeben, daß $P(T^2 \geq T_0^2 | 0) = 1 - \alpha$ ist. Dann ergibt sich die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art ε als die Wahrscheinlichkeit, daß für ν^* Freiheitsgrade $T^2 \geq c T_0^2$ ist. Für $\alpha = 0.95$ sind die diesbezüglichen Werte von ε für $n' = n'' = 10$ in Abhängigkeit von $\log \Theta$ in Abb. 3 dargestellt (Kurve I), für $n' = 5, n'' = 15$ in Kurve II. Man sieht, daß für $n' = n'' = 10$ ε stets recht nahe bei 0.05 liegt, im anderen Falle liegen die in Abschnitt 8 genannten starken Abweichungen vor. WELCH prüfte die Güte der Approximation für die Quadratsummen und fand sie ausreichend. Eine derartige Untersuchung für die Produktsummen fehlt noch. Sie soll durch Vergleich der dritten Kumulante von $a_{12}, \kappa_3(a_{12})$ mit der der Approximationsverteilung κ_3 , durchgeführt werden. Wir haben das Verhältnis

$$\lambda = \frac{\kappa_3(a_{12})}{\kappa_3} = \frac{(\nu' \Theta^3 + \nu'') (\nu' \Theta + \nu'')}{(\nu' \Theta^2 + \nu'')^2},$$

das für $\Theta \rightarrow \infty$ und $\Theta \rightarrow 0$ für alle endlichen Werte von ν' und ν'' gegen 1 strebt. Für $\nu' = \nu''$ erhält man für verschiedene Werte von Θ folgende Werte von $\lambda = \lambda_1$ und für $\nu' : \nu'' = 2:7$ folgende Werte von $\lambda = \lambda_2$:

Θ :	0.01	0.1	0.2	0.5	1	2	5	10	100
λ_1 :	1.00	1.08	1.12	1.08	1.00	1.08	1.12	1.08	1.00
λ_2 :	1.00	1.02	1.03	1.03	1.00	1.12	1.34	1.27	1.04

Die Übereinstimmung der Schiefen ist im Falle gleich großer Stichproben sehr gut, im Falle $\nu' : \nu'' = 2:7$ ausreichend; die Approximation kann also für die vorliegenden Beispiele — was die ersten drei Kumulanten betrifft — als gut bezeichnet werden.

Im Falle von W^2 (8.1) verfährt man in der gleichen Weise, es ist nur nötig, in (2) und (3) $\nu' \Theta + \nu''$ durch $\Theta/n' + 1/n''$ und $\nu' \Theta^2 + \nu''$ durch $\Theta^2/n'^2 \nu' + 1/n''^2 \nu''$

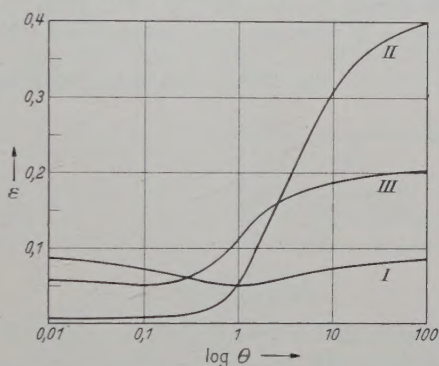


Abb. 3. Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art im Falle B für $n' = n'' = 10$ (I), $n' = 5$, $n'' = 15$ für T^2 (II) und W^2 (III).

zu ersetzen. Für ein T_0 , das bei vorgegebenem α der Bedingung $P(T^2 \geq T_0^2 | 0) = 1 - \alpha$ für $N - 2$ Freiheitsgrade genügt, erhält man $P(W^2 \geq T_0^2 | 0) = \varepsilon$ für ν^* Freiheitsgrade. Die entsprechenden Werte von ε sind für $\alpha = 0.95$ in Abb. 3, Kurve III, dargestellt. Offensichtlich ist W^2 T^2 überlegen, obgleich man für $\Theta = 1$ nicht den gleichen Wert von ε erhält wie bei Anwendung des T -Testes, sofern nicht $n' = n''$ ist. Die Resultate, in Anlehnung an WELCH erhalten, schließen den von ihm behandelten eindimensionalen Fall ein.

Zusammenfassung.

An einigen Beispielen wurde HOTELLINGS verallgemeinerter T -Test für die Prüfung der Signifikanz zweier Mittelwertepaare erläutert. Dabei wurden verschiedene Fälle hinsichtlich der Varianzen und Kovarianzen der Merkmale beider Stichproben angenommen. Ein Konfidenzbereich für den Punkt, dessen Koordinaten aus den Differenzen der Erwartungswerte der beiden Merkmale gebildet sind, wurde angegeben.

Abschnitt 8 und der Anhang sind Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlich-Mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. Herrn Prof. F. OEHLKERS bin ich für die Förderung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet. Herrn Prof. H. RICHTER danke ich für wertvolle Hinweise bei der Abfassung der vorliegenden Arbeit und Fräulein Dr. M. SCHANZ für ihre Hilfe bei den Berechnungen zu Tabelle 4. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft gewährte mir ein Assistentenstipendium, wofür ich an dieser Stelle meinen Dank abstellen möchte.

Literatur.

BEHRENS, W. U.: Ein Beitrag zur Fehlerberechnung bei wenigen Beobachtungen. Landw. Jb. 68, 807—837 (1929). — CRAMÉR, H.: Mathematical methods of statistics. Princeton: Princeton University Press 1946. — FISHER, R. A.: The use of multiple measurements in taxonomic problems. Ann. of Eugen. 7, 179—188 (1936). — FISHER, R. A., and F. YATES: Statistical tables for biological, agricultural and medical research, 2. Aufl. Edinburgh: Oliver & Boyd 1943. — HOTELLING, H.: The generalization of STUDENT's ratio. Ann. Math. Statist. 2, 359—378 (1931). — IHM, P.: Ein Konfidenzbereich für den Erwartungswert eines Mittelwertepaares. Z. Vererbungslehre 86, 54—60 (1954). — KENDALL, M. G.: The advanced theory of statistics, Bd. 2. London: Griffin & Co. 1951. — PEARSON, K.: Tables of the incomplete Beta-function. London: Biometrika Office 1934. — RAO, C. R.: Advanced statistical methods in biometric research. New York: Wiley & Sons 1952. — RICHTER, H.: Über die Teststärke des FISHERschen Testes. Z. angew. Math. Mech. 30, 197—203 (1950). — WELCH, B. L.: The significance of the difference between the means when the population variances are unequal. Biometrika (Lond.) 29, 350—362 (1938). — WILKS, S. S.: Certain generalizations in the analysis of variance. Biometrika (Lond.) 24, 470—494 (1932).

Dr. PETER IHM, Botanisches Institut, Freiburg i. Br.

Band 86

Inhalt

1. Heft

	Seite
LEHMANN, E., und M. SCHMITZ-LOHNER, Entwicklung und Polyploidie in der <i>Veronica</i> -Gruppe <i>Agrestis</i> . Mit 18 Textabbildungen	1
WELZEL, G., Entwicklungsgeschichtlich-genetische Untersuchungen an pollensterilen Mutanten von <i>Petunia</i> . Mit 11 Textabbildungen	35
IHM, P., Ein Konfidenzbereich für den Erwartungswert eines Mittelwertepaares. Mit 1 Textabbildung	54
RICKENBACHER, J., <i>Poliert (pol)</i> , eine neue Augenmutante im 4. Chromosom bei <i>Drosophila melanogaster</i> MEIG. Mit 5 Textabbildungen	61
GAUL, H., Asynapsis und ihre Bedeutung für die Genomanalyse. Mit 4 Textabbildungen	69
MICHAELIS, P., Versuche über die Ursachen der Plasmon-Umkombination. Mit 10 Textabbildungen	101
AUERBACH, C., Sensitivity of the <i>Drosophila</i> testis to the mutagenic action of X-rays. With 1 figure in the text	113
STUMM-ZOLLINGER, E., Vergleichende Analyse der Aminosäuren und Peptide in der Hämolymphe des Wildtyps und der Mutante „ <i>Letal-translucida</i> “ (<i>ltr</i>) von <i>Drosophila melanogaster</i>	126
BULL, A. L., A study of the oxygen consumption of normal and lethal embryos of <i>Drosophila melanogaster</i> . With 1 figure in the text	134
IHM, P., Anwendung von HOTELLINGS verallgemeinertem <i>T</i> -Test zur Prüfung der Differenz zweier Mittelwertepaare. Mit 3 Textabbildungen	143

Bericht

über die Sitzung des Permanenten Internationalen Komitees für den Genetischen Kongreß am 30. VIII. 1953 in Bellagio

Anwesend: Barigozzi, Brieger, Ephrussi, Feinbrun-Dothan, Hadorn, Harland, Lerner, Sinoto, Stubbe, Tavčar, de Zulueta.

1. Mitgliedschaft und Beauftragte: Die Zusammensetzung des neuen Komitees und die Beauftragten sind aus der folgenden Liste ersichtlich.

2. Entschließung, angenommen auf der Zweiten Plenarsitzung des Kongresses. Es wurde entschieden, die Resolution in den Sitzungsbericht aufzunehmen und alle Mitglieder zu veranlassen, daß sie soweit wie möglich in den in Frage kommenden Ländern und Gebieten veröffentlicht wird. Der Text der Entschließung lautet:

Der Kongreß bittet das Internationale Komitee, dafür zu sorgen, daß der nächste Kongreß nicht in irgend einem Lande stattfindet, wo damit zu rechnen ist, daß den Wissenschaftlern auf Grund der Rasse, der Nationalität, der Religion, des Geburtsorts und der früheren oder gegenwärtigen politischen Zugehörigkeit die Einreise verweigert wird.

3. Der Zehnte Internationale Genetische Kongreß soll in Montreal, Canada, stattfinden. Eine Entschließung wurde gefaßt, die dem örtlichen Komitee des nächsten Kongresses zugeleitet werden soll. Sie lautet:

Das Permanente Internationale Komitee übermittelt den Organisatoren des nächsten Kongresses seine besten Wünsche und bittet nachdrücklich darum, sich bei der Zusammenstellung des Programms und den allgemeinen Vorbereitungen nicht an Gewohnheiten gebunden zu fühlen, die früheren Kongressen eigen waren, sondern die örtlichen Bedingungen und die veränderten Erfordernisse sowie die moderne Entwicklung der Verkehrstechnik hierbei zu berücksichtigen.

4. I. U. B. S. Das Komitee beauftragte seinen Präsidenten, sich mit Herrn Prof. G. Montalenti, Sekretär der I. U. B. S., zur Aufnahme von Verhandlungen mit der I. U. B. S. in Verbindung zu setzen, aus deren Mitte das Komitee jetzt einen Ausschuß zu bilden hat.

5. Kongreßsprachen.. Es fand eine Diskussion über die auf Kongressen anzuwendenden Sprachen statt, wobei sich die allgemeine Meinung gegen eine zu große Einschränkung der Anzahl der Sprachen wandte, in welchen die Mitteilungen abgefaßt werden sollen.

Permanentes Internationales Komitee für den Genetischen Kongreß August 1953

Belgien und Niederlande:	Prof. M. J. Sirks Genetisch Instituut, Huis de Wolf, Haren/Groningen, Niederlande
China:	offen
Osteuropa (Tschechoslowakei, Ungarn, Polen, Rumänien):	offen
Frankreich:	Prof. B. Ephrussi Institut de Biologie, 13, Rue Pierre Curie, Paris V, Frankreich
Deutschland:	Prof. H. Stubbe Institut für Kulturpflanzenforschung, Schmiedestr. 1, Gatersleben, Krs. Aschersleben, Deutschland
Großbritannien und Commonwealth:	Prof. S. C. Harland Botany Department, University, Manchester 13, Großbritannien
Italien:	Prof. C. Barigozzi Istituto di Genetica, Università, Via Celoria 10, Milano, Italien
Japan:	Prof. Y. Sinoto Department of Biology, College of Liberal Arts, Christian University, Mitaka, Tokyo, Japan
Lateinamerika:	Prof. F. G. Brieger Department of Genetics, ESA „Luiz de Queiroz“, University of Sao Paulo, Piracicaba (Est. Sao Paulo) Brasilien
Naher Osten:	Dr. N. Feinbrun Dothan Department of Botany, Hebrew University, Jerusalem, Israel
Skandinavische Länder:	Prof. M. Westergaard Arvelighedslaboratoriet, Rolighedsvej 23, København V, Dänemark
Südosteuropa (Griechenland und Jugoslawien):	Prof. A. Tavčar Institute for Plant Breeding and Genetics, Faculty of Agriculture, University, Zagreb, Jugoslawien
Südasien:	Dr. G. S. Parthasarathy Agricultural Research Institute, Pusa, New Dehli, Indien
Spanien und Portugal:	Prof. A. de Zulueta Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid 6, Spanien
Schweiz und Österreich:	Prof. E. Hadorn Zoologisch Vergl. Anatomisch. Institut, Universität, Zürich, Schweiz
USA. und Canada:	Prof. I. M. Lerner University of California, Berkeley 4, California, USA
U.S.S.R.:	offen

Präsident: C. Barigozzi
Sekretär: I. M. Lerner

Diesem Heft liegen drei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin - Göttingen - Heidelberg, bei.

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg. — Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg.
Printed in Germany.